

SÉRIE A n° 1519
N° D'ORDRE :
2385

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

SABINA FILITTI

1^{re} THÈSE — SUR L'ÉQUILIBRE D'OXYDORÉDUCTION DES OXYPURINES.

2^e THÈSE — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le

5 DEC 1934

1934 devant la Commission d'examen

MM. G. URBAIN *Président.*

JEAN PERRIN } *Examinateurs.*
G. DUPONT }

PARIS (V°)

LES PRESSES UNIVERSITAIRES DE FRANCE

49, Boulevard Saint-Michel, 49



Digitized by the Internet Archive
in 2026

SÉRIE A N° 1519

N° D'ORDRE :

2385

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES PHYSIQUES

PAR

SABINA FILITTI

1^{re} THÈSE — SUR L'ÉQUILIBRE D'OXYDORÉDUCTION DES OXYPURINES.

2^e THÈSE — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le

5 DECE 1934

1934 devant la Commission d'examen

MM. G. URBAIN *Président.*

JEAN PERRIN }
G. DUPONT } *Examineurs.*

PARIS (V°)

LES PRESSES UNIVERSITAIRES DE FRANCE

49, Boulevard Saint-Michel, 49

1934

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen honoraire M. MOLLIARD.
Doyen C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du Globe.

<i>Professeurs honoraires...</i>	H. LE CHATELIER.	LÉON BRILLOUIN.	AUGER.
	H. LEBESGUE.	GOURSAT.	BLAISE.
	A. FERNBACH.	WALLERANT.	DANGEARD.
	A. LEDUC.	GUILLET.	JANET.
	Émile PICARD.	PÉCHARD.	LESPIEAU.
	Rémy PERRIER.	FREUNDLER.	MARCHIS.
			MOUTON.

PROFESSEURS

G. BERTRAND.....	T	Chimie biologique.	G. BRUHAT.....	Physique.
M. CAULLERY.....	T	Zoologie (Évolution des êtres organisés).	E. DARMOIS.....	Physique.
G. URBAIN.....	T	Chimie générale.	A. DEBIERNE.....	Radioactivité.
Émile BOREL.....	T	Calcul des probabilités et Physique mathématique.	L. DUNOYER.....	T Physique (P. C. B.).
Jean PERRIN.....	T	Chimie physique.	A. GUILLIERMOND..	T Optique appliquée.
H. ABRAHAM.....	T	Physique.	M. JAVILLIER.....	T Botanique (P. C. B.).
E. CARTAN.....	T	Géométrie supérieure.	L. JOLEAUD.....	Chimie biologique.
M. MOLLIARD.....	T	Physiologie végétale.	ROBERT-LÉVY.....	Paléontologie.
L. LAPICQUE.....	T	Physiologie générale.	F. PICARD.....	Zoologie.
E. VESSIOT.....	T	Mécanique analytique et Mécanique céleste.	Henri VILLAT.....	Zoologie (Évolution des êtres organisés).
A. COTTON.....	T	Recherches physiques.	Ch. JACOB.....	T Mécanique des fluides et applications.
J. DRACH.....	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	P. PASCAL.....	T Géologie.
Charles FABRY.....	T	Enseignement de Physique.	M. FRÉCHET.....	T Chimie minérale.
Charles PÉREZ.....	T	Zoologie.	E. ESCLANGON.....	T Calcul des Probabilités et Physique mathématique.
Léon BERTRAND...	T	Géologie structurale et géologie appliquée.	M ^{me} RAMART-LUCAS	T Astronomie.
N***.....	T	Théories chimiques.	H. BÉGHIN.....	T Chimie organique.
P. PORTIER.....	T	Physiologie comparée.	Foch.....	T Mécanique physique et expérimentale.
E. RABAUD.....	T	Biologie expérimentale.	PAUTHENIER.....	Mécanique expérimentale des fluides.
M. GUICHARD.....		Chimie minérale.	De BROGLIE.....	Physique (P. C. B.).
Paul MONTEL.....	T	Théorie des fonctions et Théorie des transformations.	CHRÉTIEN.....	T Théories physiques.
P. WINTREBERT...	T	Anatomie et histologie comparées.	P. JOB.....	Optique appliquée.
L. BLARINGHEM...	T	Botanique.	LABROUSTE.....	Chimie générale.
O. DUBOSCQ.....	T	Biologie maritime.	PRENANT.....	Physique du Globe.
G. JULIA.....	T	Application de l'analyse à la Géométrie.	VILLEY.....	Zoologie.
C. MAUGUIN.....	T	Minéralogie.	BOHN.....	Mécanique physique et expérimentale.
A. MICHEL-LÉVY...		Pétrographie.	COMBES.....	Zoologie (P. C. B.).
H. BÉNARD.....	T	Mécanique expérimentale des fluides.	GARNIER.....	Botanique.
A. DENJOY.....	T	Calcul différentiel et calcul intégral.	PÉRÈS.....	Calcul différentiel.
L. LUTAUD.....	T	Géographie physique et géologie dynamique.	HACKSPILL.....	Mécanique des fluides.
Eugène BLOCH.....	T	Physique théorique et physique céleste.	LAUGIER.....	Chimie (P. C. B.).
			TOUSSAINT.....	Physiologie générale.
			M. CURIE.....	Technique Aéronautique.
			G. RIBAUD.....	Physique (P. C. B.).
			CHAZY.....	T Hautes températures.
			GAUT.....	T Mécanique rationnelle.
			CROZE.....	Chimie (P. C. B.).
			DUPONT.....	Physique.
			LANQUINE.....	Chimie (P. C. B.).
				Géologie.

Secrétaire A. PACAUD.
Secrétaire honoraire D. TOMBECK.



SUR L'ÉQUILIBRE D'OXYDORÉDUCTION DES OXYPURINES

INTRODUCTION

Il n'existe encore que très peu de données sur la variation d'énergie libre correspondant aux synthèses des constituants cellulaires. Pendant longtemps on s'est contenté de baser les théories du métabolisme sur de simples bilans thermochimiques. Un schéma de métabolisme était considéré comme valable lorsque la somme des réactions impliquées correspondait à un dégagement de chaleur. On peut dire que cette application du principe de Berthelot, malgré les réserves qu'on doit faire du point de vue théorique, était le plus souvent justifiée et que l'existence d'un métabolisme endothermique, c'est-à-dire de réactions, absorbant la chaleur sans compensation simultanée par d'autres réactions exothermiques, constitue une exception.

Outre qu'une telle exception peut être importante, la détermination des variations d'énergie libre, et non plus interne, des réactions, devient nécessaire dès que l'on apporte quelque précision à la recherche des conditions énergétiques de l'évolution des substances dans les organismes. Certaines étapes de cette évolution semblent, en effet, d'après les plus récents travaux, correspondre à des réactions d'équilibre. En d'autres termes, l'irréversibilité, qui marque si nettement l'ensemble du chimisme cellulaire et correspond à sa forte exothermie, ne se retrouve pas à tous les stades du métabolisme; et on peut penser que ce sont précisément les étapes réversibles qui sont les plus intéressantes parce que ce sont elles qui assurent la constance de la composition cellulaire.

Pour ce genre de recherches, la détermination précise des énergies libres des réactions du métabolisme s'impose. Or elle n'a été effectuée jusqu'ici que pour l'oxydation de l'acide succinique en acide fumarique et celle de l'acide lactique en acide pyruvique.

Le développement de la statique biochimique pourrait être rapide si l'on disposait plus généralement d'installations permettant la mesure des chaleurs spécifiques aux basses températures. On sait qu'en appliquant le principe de NERNST, on peut alors déterminer, sans difficultés particulières, les entropies et par conséquent les énergies libres de formation de tous les corps. Mais, les biochimistes sont, à ce point de vue, tributaires de quelques laboratoires spécialisés.

C'est pourquoi, on a eu recours, dans les deux cas précédemment cités, à une méthode plus accessible.

Quand on connaît un catalyseur susceptible d'effectuer la mise en équilibre des divers constituants de la réaction, la détermination de l'énergie libre se ramène à un problème analytique. Celui-ci est généralement peu aisé à résoudre, mais dans le cas des réactions d'oxydation et de réduction, on sait écarter la difficulté en mesurant, directement, le travail produit par la transformation chimique.

Cette mesure n'est évidemment possible que si l'on a affaire à des corps électroactifs, c'est-à-dire susceptibles d'échanger des charges électriques avec une électrode inerte. Mais on peut encore appliquer la méthode si l'on dispose d'un catalyseur mettant en équilibre les constituants non électroactifs d'une réaction avec des corps jouissant de l'électroactivité. Et c'est ainsi qu'avaient pu être mesurés les potentiels d'oxydation des acides succinique et lactique.

C'est cette méthode que j'ai utilisée à mon tour pour déterminer les constantes d'équilibre entre la xanthine, l'hypoxanthine et l'acide urique. La connaissance des conditions dans lesquelles ces oxypurines se transforment les unes en les autres me paraît être une contribution à l'étude de la synthèse et du sort des purines dans les cellules. Elle présente en outre un intérêt purement physico-chimique.

A ce dernier point de vue il est remarquable que l'on ait encore peu de données sur l'énergie libre d'oxydation des divers groupements, même parmi les réactions qui ne sont pas spécialement impliquées dans le métabolisme. Quant à l'influence des substitutions sur le potentiel d'oxydation, elle n'a été étudiée systématiquement que dans un très petit nombre de cas.

En ce qui concerne les oxypurines, on n'avait fait jusqu'ici que des mesures thermochimiques. L'application de la méthode électrométrique m'a permis de déterminer les potentiels d'oxydoréduction de ces corps après une assez longue série d'essais. La méthode est en effet soumise à certaines restrictions :

Le catalyseur qui met en équilibre le système électroactif auxiliaire avec le système non électroactif à étudier est une diastase qui ne peut donc agir que dans un certain domaine d'activité des ions H^+ des solutions. Ce domaine est restreint encore par les conditions de solubilité des oxypurines et surtout par la nécessité inhérente à la méthode de disposer d'un système électroactif auxiliaire dont le potentiel normal soit très voisin de celui du système à étudier. Enfin, il s'est trouvé que le potentiel d'oxydo-réduction des oxypurines est situé au voisinage de la zone de surtension de l'hydrogène qu'on ne saurait dépasser sans rendre les mesures illusoires.

Il a donc fallu opérer dans des conditions bien définies. Mais une fois ces conditions établies, il a été possible de faire des mesures reproductibles qui ne laissent aucun doute sur la réversibilité des oxydations successives de l'hypoxanthine en xanthine et de la xanthine en acide urique.

Ces recherches ont été effectuées à l'Institut de Biologie physicochimique, dans le laboratoire de M. René WURMSER qui m'a suggéré ce travail, m'a donné tous les conseils et les moyens pour le mener à bonne fin, et à qui je tiens à exprimer toute ma gratitude. Je ne saurais assez dire combien ma tâche a été

facilitée par l'expérience et par l'obligeance toujours amicale de M. Louis RAPKINE.

Je suis heureuse de pouvoir remercier M. DELÉPINE qui m'a permis de disposer d'hypoxanthine préparée autrefois par E. FISCHER, M^{lle} E. LE BRETON qui m'a également fourni une certaine quantité de ce corps préparée par elle. Je dois à l'obligeance de M. NICLOUX d'avoir pu faire contrôler dans son laboratoire de microanalyse certains des produits employés.

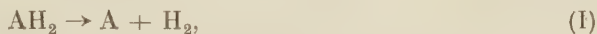
Je tiens aussi à exprimer toute ma reconnaissance à MM. Jean PERRIN et Georges URBAIN pour l'accueil si bienveillant que j'ai toujours trouvé auprès d'eux.

CHAPITRE PREMIER

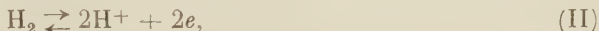
DÉTERMINATION ÉLECTROMÉTRIQUE DU POTENTIEL D'OXYDO-RÉDUCTION D'UN SYSTÈME NON ÉLECTROACTIF

1. Principe de la méthode. — La méthode employée dans ce travail est essentiellement celle qui a servi tout d'abord à QUASTEL et WHETHAM ⁽¹²⁾ ainsi qu'à THUNBERG ⁽¹⁴⁾ à mesurer le potentiel du système acide succinique $\rightleftharpoons$ acide fumarique et à WURMSER et N. MAYER-REICH ⁽¹⁹⁾ à mesurer celui du système acide lactique $\rightleftharpoons$ acide pyruvique.

Ces acides ne sont pas capables d'échanger des charges avec une électrode inerte. Ils ne sont pas électroactifs selon l'expression de WURMSER ⁽²⁰⁾. En d'autres termes si nous désignons par AH_2 les acides succinique ou lactique, l'hydrogène libéré de ces acides au cours de l'oxydation



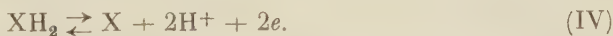
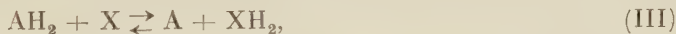
n'est pas en équilibre avec les ions H^+ suivant l'équation



e représentant l'électron. Il en résulte que si l'on plonge dans un mélange de AH_2 et de A une électrode inerte, son potentiel n'est nullement défini par le rapport des activités de AH_2 et A dans le mélange et ne peut servir à mesurer l'affinité de A pour H_2 .

On peut cependant mesurer cette affinité par la méthode électrométrique :

Il suffit, en principe de faire réagir le système non électroactif AH_2 , A au moyen d'un catalyseur convenable avec un corps électroactif X qui est, lui, en équilibre d'oxydo-réduction avec son produit de réduction XH_2 . On a la suite de réactions :



La détermination du potentiel d'une électrode inerte plongée dans le mélange en équilibre AH_2 , A , XH_2 , X permet alors la mesure de la constante d'équilibre de la réaction (V) :

$$K = \frac{[\text{A}]}{[\text{AH}_2]} [\text{H}_2]. \quad (\text{V})$$

En effet, si nous considérons l'ionisation de l'hydrogène, on a :

$$\frac{[\text{H}^+]^2 [e]^2}{[\text{H}_2]} = K_h, \quad (\text{VI})$$

et

$$e = \sqrt{K_h \frac{[H_2]}{[H^+]}} \quad (VII)$$

K_h étant la constante d'équilibre et $[e]$ l'activité électronique du système, en traitant l'électron comme une molécule d'un gaz parfait. Par convention, on donne à K_h dans l'équation (VII) la valeur 1. Il en résulte que si l'on plonge une électrode inerte dans un milieu dont l'activité électronique est $[e]$, son potentiel par rapport à l'électrode d'hydrogène normale pour laquelle $[H_2] = [H^+] = 1$ a pour expression

$$E_h = - \frac{RT}{\mathcal{F}} \ln[e] \quad (VIII)$$

où R est la constante des gaz, soit 8316 joules-degré, T la température absolue, $\mathcal{F}$ le Faraday, soit 96 500 coulombs équivalent, le signe choisi étant lui aussi conventionnel.

En portant dans l'équation (VIII) l'activité $[e]_{\mathcal{F}}$, déduite de l'équilibre (IV), on obtient la relation :

$$E_h = E_{ox} - \frac{RT}{2\mathcal{F}} \ln \frac{[XH_2]}{[X]} + \frac{RT}{\mathcal{F}} \ln[H^+] \quad (IX)$$

où E_{ox} est ce que l'on appelle le potentiel normal du système $X \rightleftharpoons XH_2$.

Si l'on connaît pour une solution du système $XH_2 \rightleftharpoons X + H_2$ dont l'activité en ions H^+ est donnée, la variation du potentiel en fonction du rapport $\frac{[XH_2]}{[X]}$ on peut calculer, à partir du potentiel du mélange en équilibre et de son activité en ions H^+ , la valeur des rapports $\frac{[XH_2]}{[X]}$ et $\frac{[AH_2]}{[A]}$ d'après la quantité initiale de AH_2 , en supposant, pour le moment, que les activités des constituants peuvent être confondues avec leurs concentrations.

Une fois calculé le rapport $\frac{[AH_2]}{[A]}$, il ne reste plus pour obtenir K d'après l'équation (V) qu'à déterminer l'activité de l'hydrogène $[H_2]$. Or, cette activité se déduit immédiatement du potentiel mesuré, en substituant dans l'équation (VIII) la valeur de $[e]$, déduite de l'équation (VII), c'est-à-dire en écrivant l'équation de NERNST de l'électrode d'hydrogène

$$E_h = \frac{RT}{\mathcal{F}} \ln[H^+] - \frac{RT}{2\mathcal{F}} \ln[H_2] \quad (X)$$

qui permet alors de calculer $[H_2]$ en connaissant E_h et l'activité en ions $[H^+]$.

En utilisant la notation de MANSFIELD CLARK :

$$rH_2 = \log \frac{1}{[H_2]}.$$

et comme

$$\log \frac{1}{[H^+]} = pH,$$

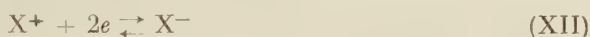
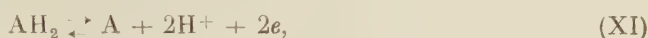
on a

$$rH_2 = \frac{E_h}{\frac{1}{0,4343} \frac{RT}{2F}} + 2pH,$$

$\frac{1}{0,4343}$ correspond à la transformation de $\ln [H^+]$ et de $\ln [H_2]$ en logarithme à base 10.

On connaît maintenant tous les termes de l'équation (V) et l'on obtient ainsi le potentiel normal du système $AH_2 \rightleftharpoons A$.

En fait, le corps électroactif peut être considéré comme un simple intermédiaire entre le système non électroactif et l'électrode. On peut donc écrire simplement les équations (III) et (IV) sous la forme



soit en substituant dans l'équation (VIII) la valeur de $[e]$ tirée de l'équilibre (XI) :

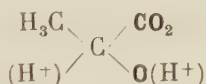
$$E_h = E_0 - \frac{RT}{2F} \cdot \frac{1}{0,4343} \log \frac{[AH_2]}{[A]} - \frac{RT}{F} \cdot \frac{1}{0,4343} pH \quad (XIII)$$

E_0 est le potentiel normal du système $AH_2 \rightleftharpoons A$.

Ce mode de représentation est plus satisfaisant, non seulement, comme l'a montré MANSFIELD CLARK, en ce qui concerne le corps électroactif, mais aussi en ce qui concerne le corps non électroactif AH_2 , selon la conception de G. URBAIN ⁽¹⁵⁾.

Par exemple, dans le cas de l'oxydation de l'acide lactique au lieu de considérer que les 2 atomes d'hydrogène qu'il perd en se transformant en acide pyruvique, passent à l'état neutre dans le corps intermédiaire électroactif, et que dans ce corps seulement ils sont capables de s'ioniser, il est plus conforme aux principes de l'électronique, d'admettre que dans l'acide lactique ils sont déjà à l'état d'ions, mais dissimulés.

On écrira alors l'ion de l'acide lactique de la manière suivante :



C'est le carbone de la fonction alcool secondaire qui fournit les 2 électrons ; son électrovalence s'accroît de 2 unités au cours de l'oxydation.

2. Conditions pratiques d'application de la méthode. — Ainsi, la détermination d'un équilibre d'oxydo-réduction $AH_2 \rightleftharpoons A$ entre corps non électroactifs, comme sont l'hypoxanthine, la xanthine et l'acide urique suppose la recherche préliminaire d'un catalyseur convenable et d'un intermédiaire électroactif approprié. Nous examinerons successivement les conditions générales auxquelles doivent satisfaire ces deux agents :

a) *Corps électroactif.* — Le système intermédiaire n'atteint pratiquement son équilibre avec le système $AH_2 \rightleftharpoons A$ que si cet équilibre ne correspond pas à un rapport extrêmement faible de la forme oxydée X à la forme réduite XH_2 , sinon quand la concentration de X devient très petite, la vitesse d'oxydation

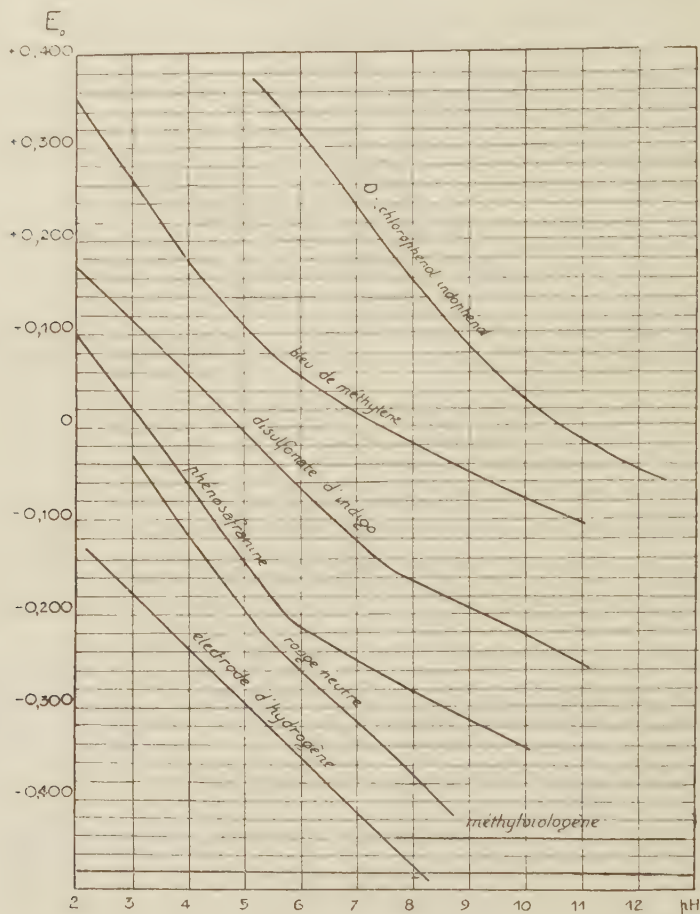


Fig. 1.

s'annule pratiquement et le potentiel mesuré ne correspondrait qu'après un temps considérable à l'équilibre entre les systèmes $X^+ \rightleftharpoons X^-$ et $AH_2 \rightleftharpoons A$.

En outre, une électrode inerte plongée dans un système oxydoréducteur très éloigné de son potentiel normal n'a un potentiel défini que si la concentration de ce système est suffisamment importante. Or le système $X^+ \rightleftharpoons X^-$ doit se trouver en très petite quantité pour ne pas inhiber le catalyseur quand celui-ci se trouve être une diastase.

En définitive il est nécessaire de disposer d'une série de systèmes électro-

actifs afin d'en choisir un dont le potentiel normal soit peu différent de celui du système non électroactif étudié.

Les indicateurs de potentiel d'oxydoréduction constituent une telle série. Ces indicateurs sont constitués par des corps en équilibre d'oxydoréduction ayant une couleur différente, suivant qu'ils sont oxydés ou réduits.

Leur variation de couleur, au voisinage de leur potentiel normal, peut servir à déterminer le potentiel d'oxydoréduction d'un milieu, pourvu que ces corps soient employés toujours à une concentration assez faible pour ne pas déplacer l'équilibre de ce milieu. C'est là le principe de la détermination colorimétrique des potentiels d'oxydo-réduction, au moyen de ces indicateurs.

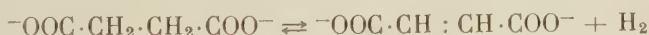
MANSFIELD CLARK a étudié toute une série de colorants électroactifs, devenant incolores par réduction, et a tracé à divers pH les courbes représentant les potentiels en fonction du pourcentage de forme réduite.

A cette série d'indicateurs d'oxydo-réduction, s'ajoutent maintenant ceux étudiés par RAPKINE, STRUYK et WURMSER (1929), MICHAELIS et EAGLE (1930), MICHAELIS (1931), COHEN et PREISLER (1931), FRIEDHEIM et MICHAELIS (1931), LETORT (1932).

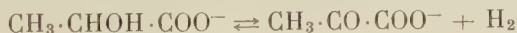
La figure 1 représente pour un certain nombre de ces indicateurs, dont il est question dans ce travail, les variations en fonction du pH , du potentiel (E_0') correspondant à la demi-réduction de ces colorants, à 30° C.

Ces indicateurs ont rendu de très grands services dans l'expérimentation biologique. Ce n'est pas toutefois comme moyens de mesure colorimétrique du potentiel qu'ils nous intéressent ici, mais comme constituants d'une échelle de corps pouvant servir d'intermédiaires avec des systèmes non électroactifs.

b) *Catalyseur*. — Les catalyseurs employés pour mettre en équilibre un système oxydoréducteur non électroactif avec un système électroactif ont jusqu'ici toujours été des diastases : la succinodéshydrase dans le cas du système acide succinique $\rightleftharpoons$ acide fumarique, l'acide lactique-déshydrase dans celui du système acide lactique $\rightleftharpoons$ acide pyruvique. Il existe de très nombreuses préparations extraites de tissus qui catalysent le transfert de l'hydrogène sur des colorants réductibles : chacune de ces déshydrases peut en principe servir à déterminer le potentiel d'oxydation du donateur d'hydrogène correspondant. Toutefois, il faut que les préparations diastasiques puissent être obtenues avec un degré de pureté assez élevé. La multiplicité des diastases dans un même tissu a pour effet qu'en préparant une certaine déshydrase on entraîne avec elle une quantité plus ou moins grande d'autres diastases susceptibles d'agir sur les constituants de la réaction étudiée et de favoriser des transformations secondaires. Par exemple la présence de fumarase trouble la mesure de l'équilibre acide succinique $\rightleftharpoons$ acide fumarique



La présence d'une diastase oxydant l'acide pyruvique trouble de même la mesure de l'équilibre acide lactique $\rightleftharpoons$ acide pyruvique.

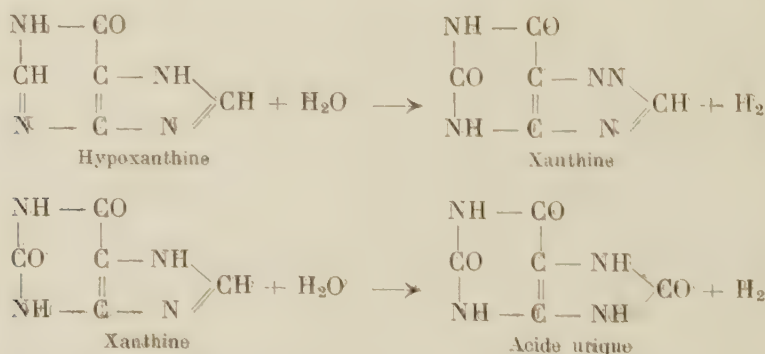


Il faut naturellement, pour que la méthode électrométrique soit applicable à la détermination de l'énergie libre d'une réaction, que directement ou par l'intermédiaire d'un corps électroactif, cette réaction puisse produire des échanges de charges. C'est le cas pour l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine et de la xanthine en acide urique.

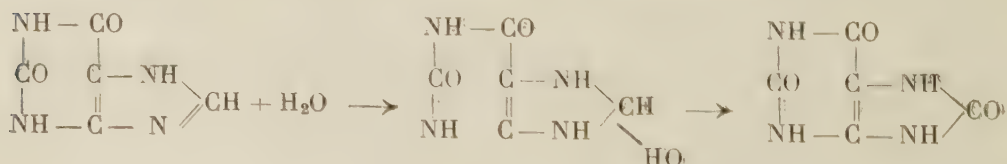
Ces réactions sont en effet des deshydrogénations typiques conformes au schéma proposé par WIELAND pour rendre compte des oxydations de nombreux corps organiques et spécialement de tous ceux qui subissent l'autoxydation biologique. WIELAND a montré que lorsque l'aldéhyde acétique s'oxyde en acide acétique, il fonctionne comme un donateur d'hydrogène, pour employer l'expression introduite ultérieurement par THILBERG. Quand on met l'aldéhyde en présence de la diastase de SCHARDINGER et de bleu de méthylène, ce dernier passe à l'état de leucodérivé par fixation de l'hydrogène cédé par l'aldéhyde préalablement hydraté. Dans la suite on a trouvé de nombreux exemples d'oxydations par deshydrogénation.

En ce qui concerne les oxypurines, on sait que l'oxydation de l'hypoxanthine et de la xanthine en acide urique est assez difficile par voie chimique, mais est facilement réalisée chez les êtres vivants, comme il résulte des travaux classiques de BURIAN, JONES et SCHITTENHELM.

MORGAN, STEWART et HOPKINS ⁽¹⁰⁾ ont montré que cette oxydation se produit en l'absence d'oxygène, quand on maintient dans des tubes vidés d'air un mélange de bleu de méthylène, de xanthine ou d'hypoxanthine et d'une certaine quantité de lait frais apportant la diastase active. On peut donc écrire les réactions sous la forme suivante :



Suivant la théorie de WIELAND on admet qu'il y a d'abord fixation d'eau, puis scission de cette molécule dans l'hydrate intermédiaire :



Il est d'ailleurs évident qu'au point de vue qui nous occupe le mécanisme même de l'oxydation n'intervient pas. Suivant l'ancienne théorie de TRAUBE par exemple, on admettrait que la molécule d'eau est d'abord hydrolysée et que les ions oxhydriles sont les agents actifs de l'oxydation.

La seule chose qui importe ici est la possibilité d'obtenir par l'oxydation de l'hypoxanthine et de la xanthine la formation des leucodérivés d'un certain nombre de colorants.

En outre il fallait s'assurer que des équilibres autres que ceux de l'hypoxanthine avec la xanthine et de la xanthine avec l'acide urique n'ont pas une influence sensible sur le potentiel de ces deux systèmes. Ainsi BACH et MICHLIN (2) avaient montré que l'hypoxanthine et la xanthine présentent dans une faible mesure le phénomène de la dismutation. Selon leurs données, la constante de dismutation aurait une valeur voisine de 10.

D'autre part, WIELAND et ROSENFELD (19) n'ont pas retrouvé les résultats de BACH et MICHLIN. Dans ces conditions, nous avons négligé la dismutation

CHAPITRE II

TECHNIQUES EMPLOYÉES

3. Purification des oxypurines. — L'hypoxanthine employée provenait pour la plus grande part d'un échantillon de ce corps préparé par E. FISCHER et dont une fraction avait servi à la détermination de la chaleur de combustion. J'ai également utilisé une certaine quantité d'hypoxanthine préparée par M^{lle} LE BRETON.

La xanthine, du laboratoire Hoffmann Laroche, a été purifiée par la méthode indiquée par BILTZ et BECK.

Environ 20 grammes de xanthine sont dissous dans 300 cm³ d'acide azotique à 30 %. La solution, après décoloration par du charbon, est laissée pendant 3-4 jours à la température de la chambre. Entre temps, la xanthine cristallise. On filtre et on lave bien les cristaux avec de l'eau.

L'acide urique, provenant de la même maison, a été dissous jusqu'à la saturation dans une solution 10⁻³M de soude ; la solution a été décolorée complètement par du charbon et l'acide urique précipité avec l'acide chlorhydrique.

L'azote de l'hypoxanthine, de la xanthine et de l'acide urique, ainsi purifiés, a été dosé par micro-Dumas dans le laboratoire de M. le professeur NICLOUX à Strasbourg.

Le tableau suivant indique les résultats obtenus :

	Pourcentage théorique de N	Pourcentage de N pour substance gardée 24 heures à l'exsiccateur		Pourcentage de N pour la substance avant la dessiccation
Hypoxanthine	41,1	40,5		40,6
Xanthine	36,84	36,7	36,6	35,7
Acide urique	30,95	31,4	31,45	30,6 30,5

Les substances ont été séchées, dans l'exsiccateur, pendant 24 heures à la pression et à la température ordinaires.

4. La xanthinedéshydrase. — La xanthinedéshydrase, grâce aux travaux de l'école de HOPKINS et de WIELAND, est la déshydrase la mieux étudiée. Elle a été découverte et extraite du lait pour la première fois par MORGAN, STEWART et HOPKINS (10) ; depuis lors diverses tentatives ont été faites pour la purifier.

Pour préparer la xanthinedéshydrase, j'ai utilisé la méthode de DIXON et THURLOW (5) modifiée par DIXON et KODAMA (6).

D'après cette méthode trois litres de lait frais sont chauffés à 38° C. et mélangés avec 15 à 20 cm³ de présure. Le mélange est abandonné pendant 30 minutes environ dans un thermostat toujours à 38° C. ; au bout de ce temps il se forme un coagulat ; on le divise avec une baguette et à l'aide d'une passoire on sépare le petit lait.

Le petit lait, ainsi obtenu, est mélangé avec un volume égal d'une solution saturée à 38° C. de sulfate d'ammonium.

Il se forme un précipité abondant et très léger, qui se rassemble rapidement en une couche superficielle. On siphonne le liquide et le précipité est transporté sur du papier filtre et séché aussi bien que possible ; le produit sec est mis dans une capsule et trituré avec de l'éther pour en extraire les graisses. On dessèche dans le vide. On obtient environ 15 grammes d'une poudre blanche.

Il est important de faire cette préparation rapidement et de sécher vite la déshydrase pour empêcher l'oxydation par l'air.

DIXON et KODAMA purifient ensuite la déshydrase par des adsorptions successives sur du charbon et du kaolin. Nous n'avons pas eu recours à cette purification parce que l'activité et la pureté de notre première préparation s'est toujours montrée suffisante pour nos expériences.

5. Technique des déterminations des potentiels. — Les mesures électrométriques ont été effectuées dans deux types différents de cellules, les unes constituées par des tubes de Thunberg, modifiés pour servir à la mesure électrométrique, comme ont déjà fait BORSOOK et SCHOTT ⁽³⁾, les autres par des piles à pont capillaire de WURMSER et GELOSO ⁽²¹⁾.

a) *Tubes de Borsook.* — Un tube à essai, muni d'un diverticule, est fermé par un bouchon rodé et prolongé à sa partie inférieure par un capillaire. Le bouchon est traversé par deux tubes minces, dont les extrémités atteignent presque le fond du tube de Thunberg et portent des électrodes de platine. Le bouchon est, en outre, percé d'un trou communiquant avec une tubulure latérale, par laquelle on peut effectuer le vide. Quant au capillaire, il est rempli d'un mélange d'agar à 3 % dans une solution de KCl saturée à 40° C. et il est plongé dans un tube à essai, dont le diamètre est environ deux fois plus grand que le diamètre extérieur du capillaire, rempli, lui aussi, avec le même mélange d'agar et de KCl (fig. 2).

Le remplissage du capillaire et du tube à essai est effectué à 95° C. Après refroidissement, l'agar du capillaire, protégé par l'agar du tube à essai, constitue un pont conducteur, suffisamment résistant à la pression extérieure. L'ensemble constitué par le capillaire et le tube à essai est alors plongé dans une solution de KCl, saturée, en communication avec une électrode de calomel saturée.

Les tubes sont maintenus dans un thermostat à eau à 38°.

Les mesures de force électromotrice sont effectuées suivant la technique

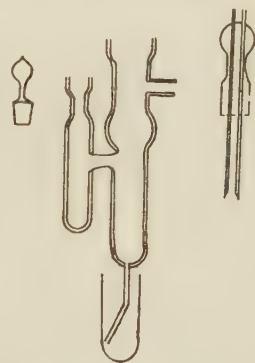


Fig. 2.

Tube de Thunberg-Borsook.

usuelle d'opposition, à l'aide d'un potentiomètre et d'un électromètre capillaire, permettant de mesurer une F. E. M. de 0,001 volt.

b) *Piles de Wurmser et Geloso.* — Ces piles closes de WURMSER et GELOSO sont constituées de deux tubes en verre A et B, reliés par un capillaire (fig. 3).

Dans ces piles, les mélanges électroactifs ne viennent plus en contact avec de l'agar-agar.

En *e* et *e'*, il y a deux électrodes en platine. Dans un de ces tubes A, on met le mélange dont on veut déterminer le potentiel, dans l'autre tube B on introduit les constituants d'une électrode de référence de potentiel constant.

Le passage du courant est assuré par l'électrolyte fixé sur la surface interne du tube A et du capillaire. Pour que la résistance de cette couche ne soit pas trop forte, il est nécessaire d'utiliser pour la construction de l'appareil un cristal facilement attaquable. Le cristal Martin donne les meilleurs résultats. Afin que le courant ne passe pas entre *e* et *e'* par l'extérieur du tube, on enduit l'appareil extérieurement, en *f* et *g* avec un isolant comme le ciment de Khotinski.

Les mesures de potentiel sont effectuées entre *e* et *e'* au moyen d'un électromètre à triode.

La résistance de ces piles a été mesurée par la méthode très commode, indiquée par R. AUDUBERT ⁽¹⁾, en comptant le nombre d'éclairs d'une lampe au néon reliée

aux bornes d'un condensateur. Le condensateur est chargé à travers la résistance à mesurer *R* au moyen d'un potentiomètre. La période d'allumage *T* est reliée à la capacité *C* du condensateur par la relation :

$$T = C \cdot R \log \frac{V_0 - V_2}{V_0 - V_1}.$$

V_1 étant le potentiel d'allumage de la lampe, V_2 celui d'extinction et V_0 le potentiel appliqué. La résistance de ces piles varie de 10 mégohms à 30 mégohms quand la molarité du tampon et du KCl de l'élément au calomel varie de 1 M à 0,05 M.

Thermostats. — Toutes les expériences, sauf celles destinées à la mesure du coefficient de température, ont été effectuées à $38^\circ \pm 0,1$. Le thermostat à eau servant aux mesures en tubes de BORSOOK est constitué par une large cuve rectangulaire renfermant à chaque extrémité une résistance chauffante contenue dans une boîte métallique. L'agitation est réalisée au moyen d'un balancier muni à sa partie inférieure d'une large palette. On peut placer dans ce thermostat un grand nombre d'électrodes à la fois.

Les tubes THUNBERG-BORSOOK étaient plongés dans des gros tubes à essai fixés tout le long du thermostat et remplis avec une solution saturée de chlorure

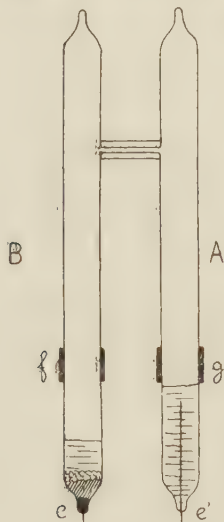


Fig. 3. — Pile de Wurmser et Geloso.

de potassium. Un thermorégulateur à mercure et toluène maintient la température à $38^{\circ} \text{C} \pm 0,1$.

Pour les piles closes de WURMSER et GELOSO, on ne peut utiliser un thermostat à eau à cause de l'isolement nécessaire aux mesures d'éléments à très haute résistance. J'ai employé une étuve à air chauffée électriquement.

Les mesures de potentiel étaient faites dans l'étuve même qui était mise à la terre et dans laquelle on faisait pénétrer un fil sous plomb directement réuni à la grille de la lampe électrométrique.

c) *Mesure du pH.* — Le pH des solutions a été mesuré à la température de 38° , avec l'électrode d'hydrogène à la fin de chaque expérience et dans les tubes mêmes qui ont servi aux mesures de E_h , afin d'éliminer le potentiel de diffusion.

CHAPITRE III

LE CORPS ÉLECTROACTIF INTERMÉDIAIRE

6. **Recherche du corps électroactif.** — Pour choisir le corps électroactif susceptible de servir d'intermédiaire dans la mesure électrométrique du potentiel du système hypoxanthine $\rightleftharpoons$ xanthine $\rightleftharpoons$ acide urique, j'ai essayé successivement les divers indicateurs jusqu'à ce que l'un d'eux fût seulement partiellement réduit en présence des 2 premières oxypurines.

On savait déjà que la xanthine-déshydrase qui est très spécifique vis-à-vis des donateurs d'hydrogène, hypoxanthine et xanthine, n'est pas spécifique vis-à-vis de l'accepteur d'hydrogène ; et que presque toutes les substances réductibles, peuvent oxyder l'hypoxanthine ou la xanthine en présence de la diastase.

Parmi les réducteurs essayés par DIXON (7) se trouvaient tous les indicateurs de l'échelle de M. CLARK compris entre le *o*-chlorophénol-indophénol et le disulfonate d'indigo. L'indicateur recherché devait donc avoir un potentiel négatif plus grand que 0,125 volt.

Effectivement, j'ai vérifié au moyen de la technique de THUNBERG que l'hypoxanthine et la xanthine en présence de la xanthine déshydrase réduisent toute la série des indicateurs d'oxydo-réduction, y compris le chlorure de diméthyl- $\gamma\gamma'$ -dipyridile de MICHAELIS.

En outre, j'ai suivi électrométriquement la variation du potentiel d'une électrode inerte plongée dans un milieu fortement tamponné contenant un mélange de diastase, d'hypoxanthine ou de xanthine, et de divers indicateurs d'oxydo-réduction.

Le tableau I et les courbes suivantes (fig. 4) montrent les valeurs du potentiel d'un mélange d'hypoxanthine (1 cm³ de solution 1,47 · 10⁻² M dans NaOH N/10), de xanthine-oxydase (solution à 1 % dans tampon M de phosphate de pH = 7,3) et de bleu de méthylène (2 · 10⁻⁴ M) ou de phénosafranine (2 · 10⁻⁴ M) ou de chlorure de diméthyle- $\gamma\gamma'$ -dipyridile (10⁻³ M) avec 1 cm³ tampon de BENEDICT (9 grammes de PO₄Na₂H et 1 gramme de PO₄NaH₂ par litre) et 2 cm³ de tampon de phosphate monosodique M et de NaOH de pH = 7,3.

Les valeurs de E_h indiquées dans ce tableau et dans tous les tableaux qui suivent sont la moyenne des mesures faites avec les deux électrodes de chaque tube.

On voit que les potentiels limites qui s'établissent, sauf dans le cas où le corps électroactif est le chlorure de diméthyle- $\gamma\gamma'$ -dipyridile sont peu reproductibles et peu stables. Ils sont d'ailleurs très éloignés des potentiels normaux des colorants employés.

TABLEAU I

Hypoxanthine $1,47 \cdot 10^{-2}$ M (2 mgr. pour 1 cm³ NaOH N/10). Déshydrase solution à 1 % dans tampon $pH = 7,3$. Bleu de méthylène $5 \cdot 10^{-4}$ M. Phénosafranine $5 \cdot 10^{-4}$ M. Chlorure de diméthyle- $\gamma\gamma'$ -dipyridile 10^{-3} M.

Chaque tube contient : 1 cm³ d'hypoxanthine, 1 cm³ de déshydrase, 1 cm³ tampon de Benedict, 2 cm³ tampon M de phosphate $pH = 7,3$. Dans les tubes nos 1 et 2 on ajoute 1 cm³ bleu de méthylène. Dans les tubes nos 3 et 4 on ajoute 1 cm³ de phénosafranine. Dans le tube n° 5 on ajoute 1 cm³ chlorure de diméthyl- $\gamma\gamma'$ -dipyridile.

Heures	Numéros des tubes				
	1	2	3	4	5
	E_h volt	E_h volt	E_h volt	E_h volt	E_h volt
3 h	— 0,232	— 0,216	— 0,330	— 0,335	— 0,369
19 h	— 0,173	— 0,251	— 0,368	— 0,355	— 0,450
27 h	— 0,277	— 0,344	— 0,357	— 0,400	— 0,458
51 h	— 0,292	— 0,366	— 0,363	— 0,385	— 0,467
91 h	— 0,321	— 0,359	— 0,382	— 0,357	— 0,468
98 h	— 0,347	— 0,365	— 0,392	— 0,397	— 0,471
122 h	— 0,343	— 0,361	— 0,383	— 0,353	— 0,470
160 h					— 0,469
210 h					— 0,468
	$pH = 7,57$	$pH = 7,60$	$pH = 7,60$	$pH = 7,64$	$pH = 7,70$

En présence du méthylviologène, au contraire, le potentiel limite du mélange a une valeur voisine du potentiel normal de ce colorant et il est très stable.

Le chlorure de diméthyle- $\gamma\gamma'$ -dipyridile a été préparé et titré électrométriquement par MICHAELIS ⁽⁹⁾.

Son potentiel normal est indépendant du pH entre $pH7$ et $pH13$ et il a comme valeur — 0,440 volt par rapport à l'électrode d'hydrogène à 30°. On ne peut obtenir de bonnes courbes de titrage en milieu acide, car le potentiel normal se trouve en zone de surtension.

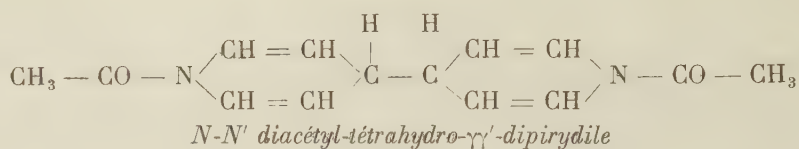
Ce colorant est le seul qui puisse être utilisé comme corps électroactif intermédiaire pour l'étude de l'équilibre des oxypurines : les autres colorants atteignent un taux de réduction trop élevé.

Encore le méthylviologène n'est-il utilisable que dans un domaine étroit d'activité des ions H^+ . En dehors de ces limites, le potentiel normal de cet indicateur s'écarte trop de celui des systèmes hypoxanthine-acide urique et xanthine-acide urique.

7. Préparation du chlorure de diméthyle- $\gamma\gamma'$ -dipyridile. — Le chlorure de diméthyle- $\gamma\gamma'$ -dipyridile ne se trouve pas dans le commerce et je l'ai préparé selon les indications de MICHAELIS.

Pour obtenir le chlorure de diméthyle- $\gamma\gamma'$ -dipyridile, il faut préparer d'abord,

à partir de pyridine et d'anhydride acétique, le N-N' diacétyl-tétrahydro- $\gamma\gamma'$ -dipyridile.



que l'on oxyde en $\gamma\gamma'$ -dipyridile et que l'on méthyle et chlorure ensuite ⁽⁹⁾.

A) Préparation du N-N' diacétyl-tétrahydro- $\gamma\gamma'$ -dipyridile. — Dans un

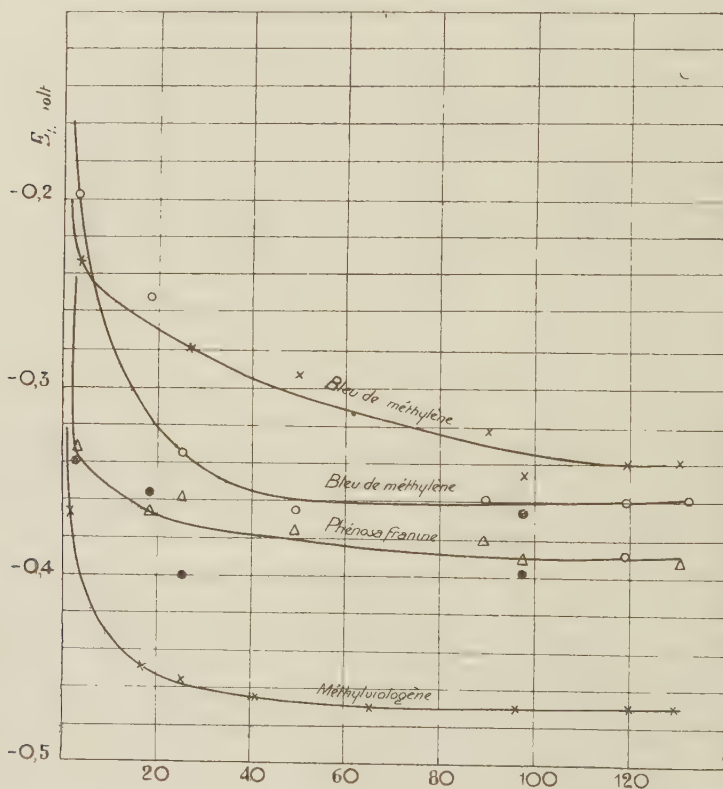


Fig. 4.

ballon, refroidi par agitation dans l'eau, et où l'on a mis 50 cm³ de pyridine et 250 cm³ d'anhydride acétique, on ajoute très lentement, par petites portions et en agitant tout le temps 50 grammes de poudre de zinc très fine.

La pyridine et l'anhydride acétique doivent être tout à fait anhydres. On les emploie immédiatement après distillation, la pyridine ayant été distillée sur potasse et l'anhydride acétique sur de l'acétate de sodium.

On observe une coloration jaune de la solution, puis la formation de cristaux

Tout se prend finalement en une masse cristalline. On chauffe alors au bain-marie à 90-95° en agitant de temps en temps jusqu'à redissolution complète des cristaux, il reste de la poudre de zinc et de l'acétate de zinc. On filtre à chaud et on laisse cristalliser le N-N' diacétyl-tétrahydro- $\gamma\gamma'$ -dipyridile. On essore à froid, on lave le produit avec un peu d'eau froide et on sèche rapidement les cristaux dans le vide en présence d'acide sulfurique. Le point de fusion de ce corps est de 124°-125°. On le fait recristalliser dans de l'alcool s'il n'est pas dès le début suffisamment pur.

B) *Oxydation du N-N'-diacétyl-tétrahydro- $\gamma\gamma'$ -dipyridile.* — Pour obtenir le $\gamma\gamma'$ -dipyridile, on dissout le N-N'-diacétyl-tétrahydro-dipyridile dans de l'alcool chaud et on fait passer à travers cette solution un courant d'air jusqu'à ce que la solution devienne sirupeuse. Par refroidissement le $\gamma\gamma'$ -dipyridile cristallise sous forme d'aiguilles blanches.

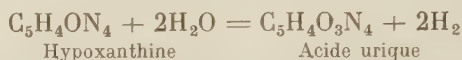
C) *Préparation du chlorure de diméthyl- $\gamma\gamma'$ -dipyridile.* — 0,5 gr. de $\gamma\gamma'$ -dipyridile sont chauffés légèrement jusqu'à dissolution complète avec 3 cm³ de sulfate de diméthyle. Après refroidissement, on ajoute de l'eau, on se débarrasse de l'excès de sulfate de diméthyle avec de l'éther. On précipite de la solution aqueuse la base avec de l'acide picrique. Les cristaux de picrate sont dissous dans 200 cm³ d'eau additionnée de 50 cm³ d'acide chlorhydrique concentré et l'on chauffe jusqu'à dissolution. La solution encore chaude est agitée avec du toluol et ensuite avec de l'éther pour éloigner l'acide picrique. Enfin la solution est évaporée à sec et le dépôt est dissous dans de l'alcool méthylique.

Pour faire cristalliser le chlorure de diméthyle- $\gamma\gamma'$ -dipyridile, on ajoute à cette solution alcoolique quelques gouttes de benzène et on évapore jusqu'à ce que le chlorure commence à se séparer.

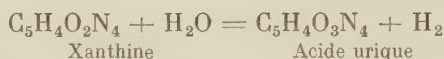
CHAPITRE IV

ÉQUATION DE L'ÉLECTRODE

8. Nombre d'équivalents d'hydrogène échangés. — Dans l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine et de la xanthine en acide urique, il y a une libération totale de 4 équivalents d'hydrogène



Dans l'oxydation de la xanthine, il y a une libération de 2 équivalents d'hydrogène



On constate tout d'abord que, au voisinage de la neutralité, les quatre équivalents d'hydrogène intervenant dans la réaction de l'oxydation de l'hypoxanthine en acide urique et les deux équivalents d'hydrogène intervenant dans l'oxydation de la xanthine en acide urique sont échangés à des niveaux d'énergie très voisins. L'hypoxanthine réduit des quantités équivalentes à 4 hydrogènes et la xanthine des quantités équivalentes à 2 hydrogènes de tous les indicateurs d'oxydo-réduction jusqu'au chlorure de diméthyl- $\gamma\gamma'$ -dipyridile.

C'est ce que montrent les expériences portées dans les tableaux suivants, où soit l'hypoxanthine, soit la xanthine, en présence de la xanthine déshydrase, et en milieu tamponné, réduisent des quantités de bleu de méthylène, de phénosafranine, de rouge neutre et de méthylviologène correspondant à quatre ou deux équivalents d'hydrogène.

Les expériences avec le bleu de méthylène, la phénosafranine et le rouge neutre sont des déterminations colorimétriques. Pour le méthylviologène comme le leuco dérivé est bleu tandis que la forme oxydée est incolore, j'ai suivi électrométriquement la réduction du colorant. Aussitôt qu'on dépasse la quantité de colorant nécessaire pour l'oxydation totale de l'hypoxanthine ou de la xanthine en acide urique, le potentiel final s'élève.

TABLEAU II

Hypoxanthine M/68 (2 mgr. p. 1 cm³ NaOHN/10) ; Deshydrase 1 % dans tampon M de pH = 6,9

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
	cm ³	cm ³	cm ³	cm ³	cm ³	cm ³	cm ³	cm ³	cm ³	cm ³	cm ³	cm ³	cm ³	cm ³	cm ³	cm ³
<i>Hypoxanthine</i>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Deshydrase</i>	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
<i>Bleu de méthyl. M/68</i>	1	2	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Phénosafranine M/50</i>	—	—	—	0,5	0,75	1,4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Phénosafranine M/136</i>	—	—	—	—	—	—	4	5	—	—	—	—	—	—	—	—
<i>Rouge neutre M/50</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	0,5	0,75	—	—	—	—	—	—
<i>Rouge neutre M/136</i>	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	2	4	1	4	5
<i>H₂O</i>	2	1	—	2,5	2,25	1,6	1	—	2,5	2,25	3	2	—	4	1	—

N° 1 décoloré dans 3 heures ; n° 2 décoloré dans 9 heures ; n° 3 non décoloré après 15 jours ; n° 4 décoloré dans 12 heures environ ; n° 5 décoloré dans 12 heures environ ; n° 6 décoloré dans 12 heures environ ; n° 7 décoloré ; n° 8 non décoloré complètement après 20 jours ; n° 9 décoloré ; n° 10 décoloré ; n° 11 décoloré ; n° 12 décoloré ; n° 13 décoloré (un peu de précipité rouge) ; n° 14 décoloré ; n° 15 décoloré (un peu de précipité rouge) ; n° 16 très peu décoloré. Le pH final varie de 7,3 à 7,4 à 23°.

TABLEAU III

Hypoxanthine M/68 solution dans NaOH N/10. Déshydrase 1 % solution dans tampon M de pH = 8,3.

Chaque tube contient : 1 cm³ d'hypoxanthine, 3 cm³ de déshydrase. Dans le tube n° 1 on ajoute 5,5 mgr. méthylviologène et 1 cm³ tampon M de phosphate pH = 8,3. Dans le tube n° 2 on ajoute 11 mgr. méthylviologène et 1 cm³ tampon M de phosphate pH = 8,3. Dans les tubes n°s 3 et 5 on ajoute 5,5 mgr. méthylviologène et 1 cm³ H₂O. Dans les tubes n°s 4 et 6 on ajoute 11 mgr. méthylviologène et 1 cm³ H₂O. Dans le tube n° 7 on ajoute 16,5 mgr. méthylviologène.

Numéros des tubes		Numéros des tubes		Numéros des tubes					
Heures	1	2	Heures	3	4	Heures	5	6	7
	E _h volt	E _h volt		E _h volt	E _h volt		E _h volt	E _h volt	E _h volt
20 m.	— 0,395	— 0,387	30 m.	— 0,355	— 0,348	1 h.	— 0,387	— 0,367	— 0,335
2 h.	— 0,417	— 0,405	2 h.	— 0,407	— 0,393	3 h. 30	— 0,415	— 0,396	— 0,381
17 h.	— 0,452	— 0,437	17 h.	— 0,446	— 0,430	18 h.	— 0,452	— 0,438	— 0,423
24 h.	— 0,460	— 0,447	23 h.	— 0,453	— 0,437	27 h. 30	— 0,459	— 0,442	— 0,430
26 h.	— 0,463	— 0,449	26 h.	— 0,456	— 0,437	44 h.	— 0,471	— 0,451	— 0,439
41 h.	— 0,473	— 0,457	42 h.	— 0,467	— 0,446	51 h.	— 0,474	— 0,451	— 0,441
50 h.	— 0,475	— 0,458	50 h.	— 0,471	— 0,448	68 h.	— 0,479	— 0,455	— 0,447
66 h.	— 0,480	— 0,466	65 h.	— 0,477	— 0,453	92 h.	— 0,489	— 0,462	— 0,456
74 h.	— 0,482	— 0,467	74 h.	— 0,477	— 0,454	99 h.	— 0,487	— 0,463	— 0,453
89 h.	— 0,484	— 0,470	91 h.	— 0,481	— 0,455	115 h.	— 0,490	— 0,464	— 0,456
98 h.	— 0,486	— 0,472	98 h.	— 0,482	— 0,454	123 h.	— 0,492	— 0,468	— 0,456
115 h.	— 0,488	— 0,474	115 h.	— 0,484	— 0,456	140 h.	— 0,491	— 0,465	— 0,457
122 h.	— 0,485	— 0,471	139 h.	— 0,485	— 0,461	147 h.	— 0,491	— 0,468	— 0,457
135 h.	— 0,486	— 0,474	146 h.	— 0,489	— 0,466	163 h.	— 0,491	— 0,465	— 0,457
163 h.	— 0,489	— 0,474	162 h.	— 0,485	— 0,463	171 h.	— 0,493	— 0,469	— 0,459
170 h.	— 0,492	— 0,478	170 h.	— 0,485	— 0,463	186 h.	— 0,493		— 0,459
186 h.	— 0,490	— 0,477	187 h.	— 0,489	— 0,466	192 h.	— 0,422		— 0,460
194 h.	— 0,490	— 0,477	194 h.	— 0,489	— 0,467				
211 h.	— 0,489	— 0,478	210 h.	— 0,488	— 0,467				
218 h.	— 0,490	— 0,480	218 h.	— 0,490	— 0,469				
236 h.	— 0,491	— 0,479	233 h.	— 0,490	— 0,469				
pH = 8,44 à 37°		pH = 7,78 à 37°	pH = 7,80 à 37°		pH = 7,34 à 37°	pH = 7,62 à 37°		pH = 7,30	pH = 7,00 à 37°

TABLEAU IV

Hypoxanthine M/68 solution dans NaOH N/10. Déshydrase, solution 1 % dans du tampon M de pH = 6,9.

Chaque tube contient : 2 cm³ d'hypoxanthine, 3 cm³ de déshydrase. Dans le tube n° 1 on ajoute 0,2 cm³ méthylviologène 10⁻³ M et 0,8 cm³ H₂O. Dans le tube n° 2 on ajoute 1 cm³ méthylviologène 10⁻³ M. Dans le tube n° 3 on ajoute 1 cm³ méthylviologène M/27. Dans le tube n° 4 on ajoute 1 cm³ méthylviologène M/18.

Heures.	Numéros des tubes			
	1	2	3	4
	E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt
1 h	+ 0,400	— 0,383	— 0,377	— 0,367
2 h. 30 m.	+ 0,350	— 0,417	— 0,390	— 0,379
19 h.	— 0,436	— 0,463	— 0,421	— 0,410
26 h. 30 m.	— 0,449	— 0,465	— 0,425	— 0,414
42 h. 30 m.	— 0,450	— 0,463	— 0,436	— 0,420
51 h.	— 0,450	— 0,461	— 0,436	— 0,425
67 h.	— 0,447	— 0,460	— 0,437	— 0,423
75 h. 30 m.	— 0,449	— 0,459	— 0,441	— 0,427
91 h.	— 0,446	— 0,460	— 0,441	— 0,429
99 h.	— 0,450	— 0,457	— 0,443	— 0,431
	pH = 7,36	pH = 7,20	pH = 7,16	pH = 7,18

TABLEAU V

Xanthine M/68 (2,23 mgr. pour 1 cm³ NaOH N/10) ;
Déshydrase solution à 1 % dans tampon M de pH = 6,9.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Xanthine	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Déshydrase	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Bleu de méthyl. M/68	0,5	1	1	1,5	—	—	—	—	—	—	—
Phénosafranine M/136	—	—	—	—	2	2,5	—	—	—	—	—
Rouge neutre M-10 ⁻³	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—
Rouge neutre M/136	—	—	—	—	—	—	—	1	2	2	2,5
Tampon	1,5	1	1	0,5	—	—	2	2	1	1	1

N° 1 décoloré dans 15 minutes ; n° 2 décoloré dans 10-15 heures ; n° 3 décoloré dans 15 heures ; n° 4 non décoloré après 3 semaines ; n° 5 décoloré dans 11 heures ; n° 6 décoloré rien qu'en partie ; n° 7 décoloré dans 3 h. 30 m. ; n° 8 réduit ; n° 9 et 10 décoloré (un peu de précipité rouge) ; n° 11 non décoloré complètement après 10 jours.

TABLEAU VI

Xanthine M/68 (2,23 mgr. pour 1 cm³ NaOH N/10) ; Déshydrase solution à 1 % dans tampon M de pH = 8,3 ; Méthylviologène 10⁻³ M ou cristaux.

Chaque tube contient 1 cm³ xanthine, 3 cm³ déshydrase. Dans le tube n° 1 on ajoute 1 cm³ méthylviologène 10⁻³ M. Dans le tube n° 2 on ajoute 5,5 mgr. méthylviologène et 1 cm³ tampon M de phosphate. Dans les tubes n° 3 et 4 on ajoute 5,5 mgr. méthylviologène et 1 cm³ H₂O. Dans le tube n° 5 on ajoute 11 mgr. méthylviologène et 1 cm³ H₂O.

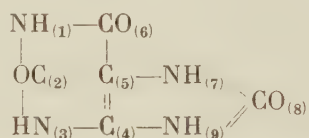
Heures	Numéros des tubes				
	1	2	3	4	5
	E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt
20 m	— 0,435	— 0,412	— 0,390	— 0,395	— 0,390
2 h	— 0,470	— 0,433	— 0,426	— 0,423	— 0,406
17 h	— 0,480	— 0,465	— 0,460	— 0,465	— 0,445
24 h	— 0,486	— 0,470	— 0,464	— 0,469	— 0,448
26 h	— 0,489	— 0,471	— 0,467	— 0,472	— 0,451
41 h	— 0,488	— 0,473	— 0,471	— 0,472	— 0,447
50 h	— 0,490	— 0,475	— 0,472	— 0,469	— 0,449
66 h	— 0,486	— 0,474	— 0,474	— 0,471	— 0,449
74 h	— 0,485	— 0,474	— 0,476	— 0,472	— 0,448
89 h	— 0,476	— 0,470	— 0,474	— 0,470	— 0,450
98 h	— 0,478	— 0,471	— 0,472	— 0,473	— 0,449
115 h	— 0,473	— 0,470	— 0,470	— 0,475	— 0,453
122 h	— 0,479	— 0,469	— 0,473	— 0,473	— 0,451
135 h	— 0,473	— 0,469	— 0,479	— 0,471	— 0,451
163 h	— 0,471	— 0,469	— 0,471	— 0,472	— 0,452
170 h	— 0,482	— 0,471	— 0,472	— 0,473	— 0,452
168 h	— 0,480	— 0,467	— 0,475	— 0,470	— 0,450
194 h	— 0,488	— 0,470	— 0,476	—	—
211 h	— 0,485	— 0,469	— 0,475	—	—
218 h	— 0,489	— 0,470	— 0,477	—	—
236 h	— 0,489	— 0,470	— 0,477	—	—
	pH = 8,55	pH = 7,95	pH = 7,67	pH = 7,73	pH = 7,11

9. Constantes de dissociation. — L'équation (XIII) exprime le potentiel d'un système $AH_2 \rightleftharpoons A$ en fonction du rapport des activités $[AH_2]$, $[A]$ et $[H^+]$. Les activités de $[AH_2]$ et $[A]$ ne représentent les activités de la totalité des corps AH_2 et A introduits dans le mélange que si ces corps n'ont pas de fonctions acides et basiques, ou si la dissociation est tout à fait négligeable au pH des expériences. Sinon une partie est à l'état d'ions et l'on doit en tenir compte pour calculer les activités $[AH_2]$ et $[A]$ à partir de la composition du mélange.

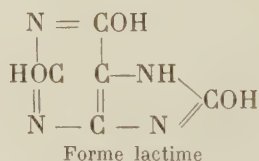
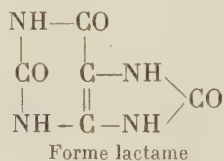
Dans les conditions où nous avons dû nous placer pour effectuer les mesures, c'est-à-dire lorsque l'activité des ions H^+ est comprise entre 10^{-7} et 10^{-8} il y aura à considérer un certain nombre de dissociations des molécules ou des ions d'oxypurines.

1^o Acide urique. — L'acide urique est un polyacide. Il forme avec les métaux deux séries de sels, suivant qu'un atome ou deux atomes d'hydrogène sont remplacés par des métaux.

On sait que le voisinage de deux groupements négatifs $>CO$ donne à l'hydrogène du groupe imidogène NH la propriété d'être remplaçable par les métaux. Il est donc logique d'attribuer la plus forte constante de dissociation au groupe portant le nombre 1 dans la formule ci-dessous :



En fait, on connaît six acides monométhyluriques qui font croire à l'existence d'une tautométrie, car ils ne peuvent être expliqués que par l'une ou l'autre des formules suivantes :



E. FISCHER admet donc que l'acide urique se présente sous une *forme lactame* ou cétonique et une *forme lactime* ou épolique.

Les constantes de dissociation ont une signification complexe (*). Ces constantes ont été récemment déterminées par titrage électrométrique par E. G. YOUNG et F. F. MUSGRAVES (16) qui ont trouvé les valeurs suivantes :

$$Ka_1 = 8 \cdot 10^{-6} ; \quad Ka_2 = 7 \cdot 10^{-10} ; \quad Ka_3 = 6 \cdot 10^{-11}$$

2^o Xanthine. — La xanthine possède deux fonctions acides, car elle forme des sels mono et di-métalliques. Elle possède en outre un groupe NH susceptible

(*) La même remarque s'applique aux autres oxypurines possédant aussi des formes tautomères si elles ont un imino-groupe dans le voisinage d'un groupe $>CO$.

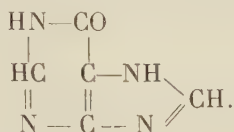
d'acquérir des propriétés basiques, soit par addition d'eau et ionisation consécutive d'oxhydrile, soit par addition directe d'un ion hydrogène. La xanthine est donc un ampholyte.

Les constantes de dissociation apparentes acide et basique de la xanthine ont été déterminées par Wood (17) par la méthode de solubilité à 40°. Les valeurs trouvées sont :

$$K_b = 6,09 \cdot 10^{-14}; \quad K_a = 1,186 \cdot 10^{-10}.$$

La constante K_a se rapporte d'ailleurs à l'ensemble des deux fonctions acides.

3° *Hypoxanthine*. — Quand à l'hypoxanthine :



on ne possédait pas jusqu'ici de données sur ses constantes de dissociation et j'ai dû les déterminer. On ne connaît de ce corps qu'une série de sels. Il n'y a donc lieu de tenir compte que d'une seule fonction acide.

J'ai employé la méthode de solubilité pour déterminer à 40° les constantes de dissociation apparentes acide et basique de l'hypoxanthine, les autres méthodes semblant impraticables.

En effet, désignons par K_a la constante de dissociation apparente des fonctions acides de l'ampholyte :

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{A}]} \quad (\text{XIV})$$

Désignons par K_b la constante de dissociation apparente des fonctions basiques :

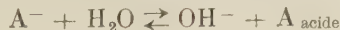
$$K_b = \frac{[\text{OH}^-][\text{A}^+]}{[\text{A}]} \quad (\text{XV})$$

et par K le produit ionique de l'eau :

$$K = [\text{H}^+][\text{OH}^-] = 10^{-14}$$

$$pK_a = -\log K_a, \quad pK_b = -\log K_b, \quad pK = -\log K.$$

Il résulte de ces définitions qu'en neutralisant à moitié la fonction acide, par de la soude par exemple, le pH de la solution sera égal à pK_a . En neutralisant, à moitié, la fonction basique, par de l'acide chlorhydrique, le pH de la solution sera égal à $pK - pK_b$. On peut ainsi déterminer ordinairement les constantes de dissociation apparentes des ampholytes. Mais ces relations ne sont exactes que si l'hydrolyse des sels, au point de semi-neutralisation, est négligeable, c'est-à-dire si les constantes K_a et K_b ne sont pas très petites et donc voisines de K ; sinon on doit tenir compte des réactions :



et



Il faut alors connaître non seulement $[H^+]$ ou $[OH^-]$ mais aussi le rapport $\frac{[A^-]}{[A]}$ ou $\frac{[A^+]}{[A]}$ qu'on peut déduire à partir des valeurs de $[H^+]$ et de $[OH^-]$ et des quantités d'acide ou de base, qui ont été ajoutées initialement à l'ampholyte. On peut aussi mesurer par conductivité la somme du sel hydrolysé et de l'acide chlorhydrique ou de la soude.

Mais, si l'on a affaire à des corps tels que la base libre ou l'acide libre sont très peu solubles, il est impossible d'obtenir une concentration saline suffisante pour que ces méthodes soient applicables. C'est le cas de l'hypoxanthine comme de la xanthine.

J'ai donc dû avoir recours à la méthode de solubilité qui est approchée, mais très suffisante pour ce qui nous concerne.

Cette méthode, appliquée d'abord par PAUL ⁽¹⁾ aux aminoacides, exige que l'hydrolyse soit considérable, c'est-à-dire que les constantes de dissociation soient faibles, ce qui est précisément notre cas.

Soit S_0 la solubilité en équivalent-gramme par litre de l'ampholyte A dans l'eau et S_b sa solubilité dans une solution contenant b équivalent-gramme par litre de soude, on peut considérer que, dans la solution alcaline, S_0 est la concentration de l'ampholyte non ionisé A. La concentration des ions A^- est $(S_b - S_0)$. La quantité d'alcali libre, non neutralisé dans la solution, est $b - (S_b - S_0)$ équivalent-gramme par litre.

Si l'on considère le sel et l'alcali libre comme complètement ionisés, la concentration des oxhydriles OH^- est égale à $b - [S_b - S_0]$ et l'on a :

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[A]} = \frac{K}{[OH^-]} \cdot \frac{[A^-]}{[A]} = \frac{[S_b - S_0]}{S_0[b - S_b + S_0]} K. \quad (XVI)$$

De même si S_a est la solubilité de l'ampholyte A dans une solution contenant a équivalent-gramme d'acide chlorhydrique par litre on a :

$$K_b = \frac{[OH^-][A^+]}{[A]} = \frac{K}{[H^+]} \cdot \frac{[A^+]}{[A]} = \frac{[S_a - S_0]}{S_0[a - S_a + S_0]} K. \quad (XVII)$$

J'ai déterminé la solubilité de l'hypoxanthine dans de l'eau bi-distillée, dans de la soude N/20 et dans de l'acide chlorhydrique N/20 à 40° C.

Afin de déterminer la solubilité de l'hypoxanthine dans l'eau, 0, 07 gr. ; 0,04 gr. et 0,03 gr. d'hypoxanthine ont été mis dans 100 cm³ de H₂O et agités mécaniquement pendant 3 heures, 4 heures ou 6 heures dans un thermostat à 40°.

Un plus grand excès d'hypoxanthine a été ensuite agité dans les mêmes conditions, en présence de NaOH N/20 ou HCl N/20.

Les quantités d'hypoxanthine dissoute ont été calculées d'après l'azote trouvé dans la solution filtrée.

L'azote était dosé par la méthode de Kjeldahl, en employant le sulfate de cuivre comme catalyseur ; les titrages étaient faits par H₂SO₄ N/20 en pré-

sence du rouge de méthyle, comme indicateur. La soude et l'acide sulfurique, employés, étaient vérifiés exempts d'azote.

a) 1 000 cm³ d'eau à 40° dissolvent :

1,8557 gr. d'hypoxanthine
1,7713 gr. »
1,6870 gr. »

soit en moyenne 1,7700 d'hypoxanthine.

b) 1 000 cm³ de NaOH N/20 à 40° dissolvent :

8,4350 gr. d'hypoxanthine
7,6276 gr. »
7,5712 gr. »

donc, en moyenne, 7,8779 gr. d'hypoxanthine.

c) 1 000 cm³ de HCl à 40° dissolvent :

3,4752 gr. d'hypoxanthine
3,8460 gr. »
4,2440 gr. »

soit, en moyenne, 3,4752 gr. d'hypoxanthine.

On a alors :

$$S_o = 0,013 \text{ mol.}; \quad S_b = 0,0579 \text{ mol.}; \quad S_a = 0,0255 \text{ mol.}$$

$$b = 0,05 \text{ mol.} = a$$

donc

$$K_a = \frac{[0,0579 - 0,013]}{0,013[0,05 - 0,0579 + 0,013]} \cdot 3,15 \cdot 10^{-14} = 2133 \cdot 10^{-14} = 2,13 \cdot 10^{-11}$$

ou $K_a = 2,13 \cdot 10^{-11}$

et

$$K_b = \frac{[0,0255 - 0,013]}{0,043[0,05 - 0,0255 + 0,013]} \cdot 3,15 \cdot 10^{-14} = 80,76 \cdot 10^{-14}$$

ou $K_b = 8,07 \cdot 10^{-13}$

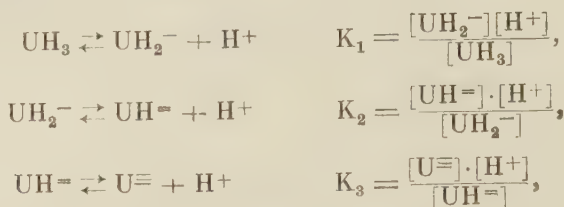
10. Equation de l'électrode xanthine $\rightleftharpoons$ acide urique. Nous sommes maintenant en mesure d'écrire l'équation complète de l'électrode xanthine $\rightleftharpoons$ acide urique. Puisque les mesures sont effectuées du côté alcalin de la neutralité et que les constantes basiques sont très faibles, nous ne retiendrons que les dissociations acides. Il suffit donc de substituer dans l'équation (XIII) à [A] qui représente l'activité de l'acide urique non dissocié et à [AH₂] qui représente l'activité de la xanthine non dissociée, les valeurs de ces activités en fonction du pH et de la concentration totale des molécules et ions d'oxypurines.

Pour simplifier, on supposera que les concentrations sont égales aux activités. L'influence de la force ionique sera traitée dans le chapitre suivant.

Exprimons d'abord l'activité de l'acide urique non dissocié que nous écrirons

pour plus de clarté $[UH_3]$ en fonction de la totalité de l'acide urique que nous désignerons par (ac. urique).

On a les équilibres suivants :



K_1, K_2, K_3 sont les constantes vraies de dissociation.

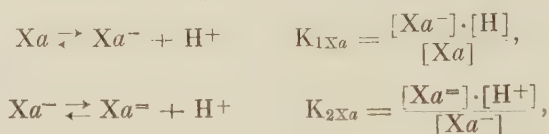
Supposons que l'on puisse identifier les activités aux concentrations, on a :

$$(\text{ac. urique}) = [UH_3] + [UH_2^-] + [UH^-] + [U \equiv], \quad (\text{XVIII})$$

d'où

$$[UH_3] = (\text{ac. urique}) \frac{[H^+]^3}{[H^+]^3 + [H^+]^2 K_1 + [H^+] K_1 K_2 + K_1 K_2 K_3}.$$

On aura de même pour la xanthine en considérant les équilibres :



La xanthine totale est désignée par (xanth.)

$$(\text{xanth.}) = [Xa] + [Xa^-] + [Xa^{=}]$$

$$[Xa] = (\text{xanth.}) \frac{[H^+]^3}{[H^+]^3 + [H^+]^2 K_{1Xa} + [H^+] K_{1Xa} K_{2Xa}} \quad (\text{XIX})$$

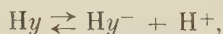
Finalement en substituant les valeurs de $[UH_3]$ et de $[Xa]$ dans l'équation (XIII) on obtient l'équation de l'électrode xanthine $\rightleftharpoons$ acide urique :

$$\left. \begin{aligned} E_h &= E_0 - \frac{RT}{2\mathcal{F}} 0,4343 \log \frac{(\text{xanth.})}{(\text{ac. urique})} \\ &- \frac{RT}{2\mathcal{F}} 0,4343 \log \frac{K_1 K_2 K_3 + K_1 K_2 [H^+] + K_1 [H^+]^2 + [H^+]^3}{[H^+]^3 + [H^+]^2 K_{1Xa} + [H^+] K_{1Xa} K_{2Xa}} \\ &+ \frac{1}{0,4343} \frac{RT}{\mathcal{F}} \log [H^+], \end{aligned} \right\} \quad (\text{XX})$$

11. Equation de l'électrode hypoxanthine $\rightleftharpoons$ acide urique. — Dans ce cas 4 équivalents d'hydrogène sont échangés au cours de l'oxydoréduction

L'expression de l'activité $[UH_3]$ de l'acide urique non dissocié en fonction de la totalité de ce corps dans le mélange est la même que précédemment.

Pour l'hypoxanthine, une seule constante acide est à considérer. On a l'équilibre :



$$K_{\text{Hy}} = \frac{[\text{Hy}^-][\text{H}^+]}{[\text{Hy}]},$$

hypoxantine totale = (hypox).

$$[\text{Hy}] = (\text{hypox.}) \frac{[\text{H}^+]}{K_{\text{Hy}} + [\text{H}^+]} \quad (\text{XXI})$$

L'équation (XIII) devient en remplaçant $[\text{AH}_2]$ par $[\text{Hy}]$:

$$\begin{aligned} E_h = E_0 - \frac{RT}{4\mathcal{F}} \frac{1}{0,4343} \log \frac{(\text{hypox.})}{(\text{ac. urique})} - \frac{RT}{4\mathcal{F}} \frac{1}{0,4343} \log \frac{[\text{H}^+]}{K_{\text{Hy}} + [\text{H}^+]} \\ \times \frac{K_1 K_2 K_3 + K_1 K_2 [\text{H}^+] + [\text{H}^+]^2 K_1 + [\text{H}^+]^3}{[\text{H}^+]^3} + \frac{RT}{\mathcal{F}} \frac{1}{0,4343} \log [\text{H}^+] \quad (\text{XXII}) \end{aligned}$$

CHAPITRE V

MESURES DES POTENTIELS

12. Marche des expériences. — Les équilibres ont été mis en évidence d'abord dans des tubes THUNBERG-BORSOOK au moyen de 3 sortes de mesures.

1) J'ai suivi l'évolution du potentiel dans un mélange contenant la déshydrase, le colorant et un mélange équimoléculaire d'hypoxanthine ou de xanthine et d'acide urique. Les potentiels limites atteints dans ces conditions correspondent aux potentiels définis en groupant dans les équations XX ou XXII tous les termes qui restent constants lorsque l'activité en ions H^+ de la solution est fixée. Pour le système hypoxanthine $\rightleftharpoons$ acide urique :

$$E'_0 = E_0 - \frac{RT}{4F} \cdot \frac{1}{0,4343} \log \frac{[H^+]}{K_{hy} + [H^+]} \\ \times \frac{K_1 K_2 K_3 + K_1 K_2 [H^+] + [H^+]^2 K_1 + [H^+]^3}{[H^+]^3} + \frac{RT}{F} \cdot \frac{1}{0,4343} \log [H^+]. \quad (XXIII)$$

2) J'ai ajouté à un mélange d'hypoxanthine, de diastase et de colorant qui a atteint son équilibre, une quantité déterminée d'acide urique, telle que le rapport hypoxanthine-acide urique soit encore égal à l'unité.

Dans ce cas, le potentiel devra finalement atteindre la même valeur E'_0 que celle obtenue dans la première série de mesures.

3) Tandis que l'hypoxanthine réduit le chlorure de diméthyle dipyridile, l'acide urique devra oxyder le leuco-dérivé de ce même colorant. On évitera ainsi l'objection que l'arrêt de la réaction dans un mélange d'hypoxanthine et d'acide urique est dû à une inhibition de la diastase par l'acide urique.

On sait en effet que les diastases sont généralement inhibées par des concentrations élevées du substrat sur lequel elles agissent. Dans le cas particulier de la xanthindéhydrase, les recherches cinétiques de DIXON et THURLOW (5) ont montré que la vitesse d'oxydation varie avec la concentration de la xanthine et de l'hypoxanthine comme le montre la figure (5).

Si bien que l'on peut se placer ainsi que nous l'avons fait dans toutes nos mesures dans des bonnes limites de concentration.

Il est toujours important dans les déterminations effectuées en présence de catalyseurs diastasiques d'opérer suivant les deux sens de la réaction.

On verra que ces 3 sortes de mesures ont donné des résultats tout à fait cohérents. On pouvait également penser à mesurer le potentiel en fonction du rapport $\frac{\text{hypoxanthine}}{\text{acide urique}}$ et $\frac{\text{xanthine}}{\text{acide urique}}$ et à s'assurer que, pour un pH donné,

la relation (XIII) s'applique bien. Mais la faible solubilité de l'acide urique, de la xanthine et même de l'hypoxanthine ne donne pas une marge suffisante pour faire varier notablement le rapport des constituants de la réaction, à moins d'employer comme tampons des sels de lithium.

13. Équilibre entre l'hypoxanthine et l'acide urique. — Toutes les déterminations ont été effectuées dans un milieu tamponné. Les solutions tampons étaient constituées par un mélange de phosphate monosodique et de soude (*).

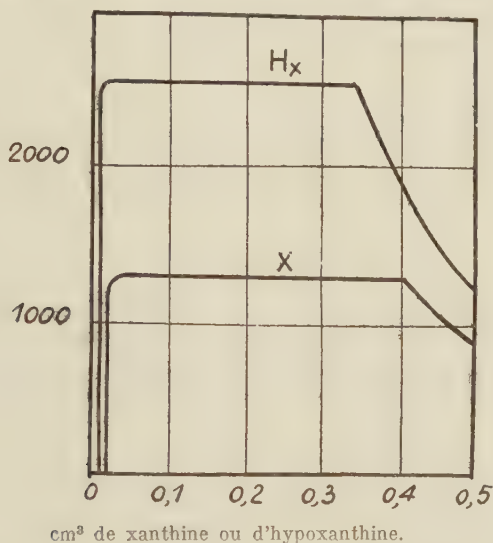


Fig. 5. — Chaque tube contient : 5,0 cm³ xanthinedéshydrase (solution dans du tampon) ; 0,5 cm³ bleu de méthylène 1 %, x cm³ hypoxanthine ou xanthine (2 mgr. pour 1 cm³), 0,5 — x cm³ d'eau. (D'après DIXON et THURLOW).

J'ai travaillé successivement avec du tampon 1 M ; 0,1 M ; 0,05 M ; 0,02 M, 0,01 M.

La diastase était dissoute directement dans du tampon à une concentration de 1 %.

Quant aux oxypurines, leur concentration était $1.47 \cdot 10^{-2}$ M. Cette valeur s'est trouvée être la plus favorable étant donné la faible solubilité de ce corps. La solubilité et la stabilité dans les différents solvants des oxypurines sont fonction du pH et des divers catalyseurs, en particulier des traces de métaux, et des phosphates.

Les chiffres sur la solubilité des dérivés puriques, trouvés dans la littérature, sont d'ailleurs très différents entre eux et ceux des ampholytes puriques le sont encore davantage.

(*) L'étude de DIXON et THURLOW (5) sur la cinétique de l'oxydation diastasique des oxypurines montre que les tampons de phthalate et d'acétate inhibent cette réaction, il est donc préférable d'effectuer les expériences en présence de tampons de borates ou de phosphates.

L'acide urique était dissous d'abord dans la soude N/10 à froid, ou dans du tampon de Benedict à chaud (vers 60°). Nous avons été amenés à faire dissoudre l'acide urique dans du tampon de Benedict (9 grammes $\text{PO}_4\text{Na}_2\text{H}$ et 1 gramme PO_4NaH_2 pour 1 000 cm^3 H_2O), selon les indications de E. LE BRETON et Ch. KAISER (8) pour ne pas avoir de trop grandes variations de pH quand on ajoute la solution d'acide urique dans NaOH N/10 dans le mélange d'hypoxanthine, de diastase et de colorant dans le cas où le tampon était dilué (0, 1 M ; 0,05 M ; 0,02 M ; et 0,01 M).

A froid (18°) la solubilité de l'acide urique dans du tampon de Benedict n'est que de 1,17 gr. (pour 1 000 cm^3 tampon) vers 80°, elle est de 2,79 gr. (pour 1 000 cm^3 tampon).

Quant à l'hypoxanthine, elle était dissoute soit dans de la soude N/10 à froid, soit en chauffant légèrement (60°) dans du tampon de Benedict, soit dans de l'eau (60°) dans le cas où le tampon était dilué.

Il n'est pas utile en effet pour l'hypoxanthine d'utiliser toujours le tampon

TABLEAU VII

Hypoxanthine M/68 solution dans NaOH N/10 ; Acide urique M/68 solution dans NaOH N/10. Déshydrase 1 % solution dans tampon M de $\text{pH} = 8,3$; Méthylviologène 10^{-3} M.

Chaque tube contient : 1 cm^3 d'hypoxanthine, 3 cm^3 de déshydrase, 0,2 cm^3 de méthylviologène. Dans le tube n° 3 on ajoute 1 cm^3 d'acide urique dès le début. Dans le tube n° 4 on n'ajoute l'acide urique que lorsque l'équilibre est atteint, au moment indiqué par un astérisque. Le tube n° 2 est un témoin servant à démontrer qu'un excès du substrat n'influe pas sur la valeur finale du potentiel. Dans le tube n° 1 on ajoute 1 cm^3 de tampon de phosphate pour qu'il contienne le même volume de liquide que les autres tubes.

Heures	Numéros des tubes			
	1	2	3	4
	E_h volt	E_h volt	E_h volt	E_h volt
1 h. 30	— 0,056	— 0,373	— 0,371	— 0,420
3 h.	— 0,363	— 0,452	— 0,446	— 0,446
4 h. 30	— 0,432	— 0,479	— 0,475	— 0,454
6 h. 30	— 0,461	— 0,497	— 0,495	— 0,462
21 h. 30	— 0,502	— 0,524	— 0,522	— 0,502
26 h. 30	— 0,504	— 0,520	— 0,522	— 0,506
30 h.	— 0,507	— 0,521	— 0,521	— 0,506
46 h.	— 0,503	— 0,509	— 0,503	— 0,511
48 h.	— 0,501	— 0,513	— 0,507	— 0,510
48 h. 15				+ 1 cm^3 ac. urique
54 h.	— 0,503	— 0,513	— 0,509	0,500
69 h.	— 0,500	— 0,508	— 0,501	— 0,510
74 h.	— 0,501	— 0,507	— 0,503	— 0,512
78 h.	— 0,506	— 0,514	— 0,508	— 0,508
100 h.	— 0,490	— 0,496	— 0,489	— 0,502
103 h.	— 0,489	— 0,493	— 0,489	— 0,494
122 h.	— 0,485	— 0,495	— 0,489	— 0,494
	$\text{pH} = 8,77$ à 38°	$\text{pH} = 8,71$ à 38°	$\text{pH} = 8,74$ à 38°	$\text{pH} = 8,52$ à 38°

de Benedict, l'hypoxanthine étant beaucoup plus soluble dans l'eau que l'acide urique.

Le potentiel d'oxydo-réduction du système hypoxanthine $\rightleftharpoons$ acide urique a été déterminé entre $pH = 7,1$ et $pH = 7,8$.

A $pH = 8,5$, le chlorure de diméthyle- γ -dipyridile ne peut déjà plus servir comme intermédiaire électroactif. Dans ce cas, le potentiel limite, qui s'établit dans un mélange d'hypoxanthine, de diastase et de colorant au pH indiqué, prend un potentiel négatif trop grand, $-0,500$, vis-à-vis du potentiel normal du méthylviologène.

En effet, en ajoutant de l'acide urique au mélange ayant atteint l'équilibre, le potentiel ne remonte pas (Tableau VII).

Les tableaux suivants (de VIII à XV) indiquent les résultats obtenus, c'est-à-dire les potentiels E_0' exprimés en volt d'un mélange $\frac{(\text{hypox})}{(\text{acide urique})} = 1$ entre $pH = 7,1$ et $pH = 7,8$ et le E_0 calculé à l'aide de ce E_h et du pH final d'après la formule (XXIII).

Les solutions tampons utilisées dans ces expériences étaient obtenues en mélangeant des solutions de phosphate monosodique moléculaire avec des solutions de soude normale.

TABLEAU VIII

Hypoxanthine M/68 (2 mgr. pour 1 cm^3 tampon de Benedict); Acide urique M/68 (2,47 mgr. pour 1 cm^3 tampon de Benedict); Déshydrase solution à 1 % dans tampon M de $pH = 7,36$. Méthylviologène 10^{-3} M.

Chaque tube contient 1 cm^3 d'hypoxanthine, 1 cm^3 de déshydrase, 1 cm^3 de méthylviologène et 2 cm^3 de tampon M de phosphate de $pH = 7,36$. Dans les tubes n^{os} 3, 4 et 5 on ajoute 1 cm^3 d'acide urique dès le début. Au tube n^o 2 on ajoute 1 cm^3 d'hypoxanthine, c'est un témoin servant à démontrer qu'un excès du substrat n'influe pas sur la valeur finale du potentiel. Dans le tube n^o 1 on ajoute 1 cm^3 tampon de Benedict pour qu'il contienne le même volume de liquide que les autres tubes.

Heures	Numéros des tubes				
	1	2	3	4	5
	E_h volt	E_h volt	E_h volt	E_h volt	E_h volt
2 h	— 0,376	— 0,388	— 0,372	— 0,376	— 0,364
17 h	— 0,384	— 0,450	— 0,388	— 0,357	— 0,370
41 h	— 0,445	— 0,453	— 0,403	— 0,394	— 0,407
49 h	— 0,447	— 0,455	— 0,407	— 0,406	— 0,409
65 h	— 0,449	— 0,453	— 0,408	— 0,408	— 0,409
73 h. 30	— 0,449	— 0,451	— 0,408	— 0,408	— 0,411
89 h	— 0,448	— 0,451	— 0,409	— 0,409	— 0,411
97 h	— 0,448	— 0,449	— 0,411	— 0,409	— 0,411
113 h	— 0,448	— 0,448	— 0,411	— 0,410	— 0,411
120 h	— 0,448	— 0,446	— 0,409	— 0,409	— 0,411
138 h	— 0,445	— 0,441	— 0,409	— 0,409	— 0,409
143 h	— 0,447	— 0,442	— 0,410	— 0,410	— 0,410
	$pH = 7,35$	$pH = 7,26$	$pH = 7,31$ $E_h = - 0,410$ $E_0 = + 0,061$	$pH = 7,31$ $E_h = - 0,409$ $E_0 = + 0,062$	$pH = 7,30$ $E_h = - 0,410$ $E_0 = + 0,061$

TABLEAU IX

Hypoxanthine $1,47 \cdot 10^{-2}$ M (2 mgr. pour 1 cm³ tampon de Benedict).Acide urique $1,47 \cdot 10^{-2}$ M (2,47 mgr. pour 1 cm³ tampon de Benedict).Diasatase solution à 1 % dans tampon M de pH = 7,5 ; Méthylviologène 10^{-3} M.Chaque tube contient 1 cm³ hypoxanthine, 1 cm³ diastase, 1 cm³ méthylviologène, 2 cm³ tampon 1 M ; n° 1 + 1 cm³ tampon de Benedict ; n°s 2, 3 et 4 + 1 cm³ acide urique.

Heures	Numéros des tubes			
	1	2	3	4
	E_h volt	E_h volt	E_h volt	E_h volt
2 h.	+ 0,208	+ 0,202	— 0,103	— 0,043
17 h.	— 0,440	— 0,408	— 0,409	— 0,404
41 h.	— 0,456	— 0,410	— 0,411	— 0,406
72 h.	— 0,460	— 0,414	— 0,414	— 0,414
97 h.	— 0,460	— 0,415	— 0,414	— 0,415
119 h.	— 0,459	— 0,415	— 0,417	— 0,420
162 h.	— 0,457	— 0,408	— 0,421	— 0,420
192 h.	— 0,455	— 0,408	— 0,418	— 0,421
216 h.	— 0,456	— 0,408	— 0,419	— 0,421
	pH = 7,42 à 38°	pH = 7,29 à 38°	pH = 7,42 à 38°	pH = 7,47 à 38°
		E_h = — 0,410 E_0 = + 0,060	E_h = — 0,418 E_0 = + 0,061	E_h = — 0,420 E_0 = + 0,063

TABLEAU X

Hypoxanthine M/68 (2 mgr. pour 1 cm³ NaOH N/10) ; Méthylviologène 10^{-3} M ; Acide urique M/68 (2,47 mgr. pour 1 cm³ tampon Benedict) ; Diasatase solution à 1 % dans tampon M pH = 7,39.Chaque tube contient 1 cm³ hypoxanthine, 1 cm³ diastase, 1 cm³ méthylviologène, 2 cm³ tampon M de phosphate ; n° 1 + 1 cm³ tampon Benedict ; n°s 2, 3 et 4 + 1 cm³ acide urique.

Heures	Numéros des tubes			
	1	2	3	4
	E_h volt	E_h volt	E_h volt	E_h volt
17 h.	— 0,450	— 0,428	— 0,428	— 0,414
41 h.	— 0,464	— 0,430	— 0,429	— 0,424
65 h.	— 0,467	— 0,433	— 0,433	— 0,425
96 h.	— 0,471	— 0,436	— 0,434	— 0,428
120 h.	— 0,470	— 0,435	— 0,435	— 0,433
161 h.	— 0,469	— 0,434	— 0,435	— 0,436
168 h.	— 0,469	— 0,437	— 0,435	— 0,437
210 h.	— 0,468	— 0,438	— 0,436	— 0,436
235 h.	— 0,468	— 0,438	— 0,437	— 0,436
	pH = 7,70 à 38°	pH = 7,67 à 38°	pH = 7,68 à 38°	pH = 7,67 à 38°
		E_h = — 0,437 E_0 = + 0,062	E_h = — 0,435 E_0 = + 0,064	E_h = — 0,436 E_0 = + 0,063

TABLEAU XI

Hypoxanthine M/68 dans NaOH N/10 ; Acide urique M/68 solution dans NaOH N/10 ; Déshydrase 1 % dans tampon M pH = 6,9 ; Méthylviologène 10^{-3} M.

Chaque tube contient : 1 cm³ hypoxanthine, 3 cm³ déshydrase, 0,2 cm³ méthylviologène. Dans le tube n° 1 on ajoute 1 cm³ tampon. Dans le tube n° 2, 1 cm³ hypoxanthine, dans les tubes n°s 3, 4 et 5, 1 cm³ acide urique dès le début. Dans le tube n° 6 on ajoute 1 cm³ acide urique lorsque l'équilibre est atteint.

Heures	Numéros des tubes					Heures	N° tubes
	1	2	3	4	5		6
	E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt		E _h volt
1 h.	+ 0,357	+ 0,389	+ 0,346	+ 0,326	+ 0,284	2 h.	+ 0,188
3 h. 30	+ 0,081	+ 0,030	— 0,020	— 0,200	— 0,337	3 h. 30	— 0,089
6 h. 30	— 0,186	— 0,367	— 0,347	— 0,367	— 0,361	20 h.	— 0,439
23 h.	— 0,422	— 0,440	— 0,380	— 0,380	— 0,396	27 h.	— 0,442
30 h.	— 0,438	— 0,446	— 0,380	— 0,386	— 0,396	43 h.	— 0,446
46 h.	— 0,439	— 0,445	— 0,378	— 0,386	— 0,394	50 h.	— 0,446
54 h. 30	— 0,436	— 0,442	— 0,378	— 0,385	— 0,392		+ 1 cm ³ acide urique
69 h.	— 0,437	— 0,445	— 0,383	— 0,393	— 0,395	50 h. 30	— 0,369
73 h.	— 0,435	— 0,447	— 0,386	— 0,390	— 0,396	51 h. 40	— 0,370
78 h.	— 0,436	— 0,446	— 0,383	— 0,389	— 0,395	67 h.	— 0,387
93 h. 20	— 0,429	— 0,443	— 0,379	— 0,389	— 0,395	70 h.	— 0,390
101 h. 30	— 0,430	— 0,444	— 0,378	— 0,390	— 0,395	75 h.	— 0,389
119 h.	— 0,427	— 0,441	— 0,370	— 0,386	— 0,390	90 h.	— 0,391
126 h. 30	— 0,424	— 0,446	— 0,377	— 0,387	— 0,392	98 h.	— 0,395
142 h.	— 0,409	— 0,441	— 0,378	— 0,391	— 0,390	116 h.	— 0,396
147 h. 30	— 0,407	— 0,441	— 0,376	— 0,389	— 0,389	123 h.	— 0,401
150 h.	— 0,410	— 0,442	— 0,383	— 0,391	— 0,389	139 h.	— 0,399
166 h.	— 0,410	— 0,441	— 0,378	— 0,388	— 0,389	144 h.	— 0,401
174 h.	— 0,409	— 0,442	— 0,375	— 0,390	— 0,390	147 h.	— 0,402
190 h.	— 0,410	— 0,442	— 0,379	— 0,387	— 0,393	163 h.	— 0,403
214 h.		— 0,440	— 0,379	— 0,388	— 0,391	171 h.	— 0,404
	pH = 6,95	pH = 7,11	pH = 7,08	pH = 7,03	pH = 7,08	187 h.	— 0,403
			E _h = — 0,378 E _u = + 0,076	E _h = — 0,387 E _u = + 0,063	E _h = — 0,390 E _u = + 0,064	214 h.	— 0,404
							pH = 7,21 E _h = — 0,400 E _u = + 0,063

TABLEAU XII

Hypoxanthine M/68 solution dans NaOH N/10 ; Acide urique M/68 solution dans NaOH N/10 ; Xanthine M/68 solution dans NaOH N/10 ; Méthylviologène 10^{-3} M ; Déshydrase 1 % solution dans tampon M de $pH = 6,9$.

Chaque tube contient : 1 cm^3 hypoxanthine, 3 cm^3 déshydrase, 0,3 cm^3 méthylviologène. Dans les tubes n^{os} 1 et 2 on ajoute 1 cm^3 tampon M de $pH = 6,9$. Dans les tubes n^{os} 3 et 4 on ajoute 1 cm^3 hypoxanthine. Dans le tube n^o 5 on ajoute 1 cm^3 acide urique. Dans les tubes n^{os} 6 et 7 on n'ajoute 1 cm^3 acide urique que lorsque l'équilibre est atteint. Dans le tube n^o 8 on ajoute 1 cm^3 xanthine lorsque l'équilibre est atteint.

Heures	Numéros des tubes							
	1	2	3	4	5	6	7	8
	E_h volt	E_h volt	E_h volt	E_h volt	E_h volt	E_h volt	E_h volt	E_h volt
1 h.	+ 0,425	+ 0,356	+ 0,411	+ 0,384	+ 0,372	+ 0,431	+ 0,433	+ 0,425
2 h.	+ 0,195	+ 0,180	+ 0,295	+ 0,298	— 0,086	+ 0,235	+ 0,409	+ 0,402
5 h.	— 0,402	— 0,369	— 0,383	— 0,169	— 0,388	— 0,375	— 0,374	— 0,396
6 h. 30	— 0,420	— 0,419	— 0,422	— 0,385	— 0,388	— 0,418	— 0,417	— 0,422
8 h.	— 0,427	— 0,421	— 0,429	— 0,425	— 0,392	— 0,425	— 0,425	— 0,429
22 h.	— 0,439	— 0,434	— 0,453	— 0,456	— 0,402	— 0,439	— 0,441	— 0,441
26 h. 30	— 0,439	— 0,425	— 0,454	— 0,451	— 0,411	— 0,440	— 0,440	— 0,440
29 h.	— 0,442	— 0,436	— 0,457	— 0,455	— 0,410	— 0,443	— 0,442	— 0,442
47 h.	— 0,435	— 0,436	— 0,454	— 0,454	— 0,407	— 0,440	— 0,438	— 0,436
51 h.	— 0,429	— 0,435	— 0,452	— 0,453	— 0,407	— 0,440	— 0,438	— 0,436
51 h.						+ 1 cm^3 acide urique	1 cm^3 acide urique	1 cm^3 xanthine
52 h.						— 0,393	— 0,390	— 0,412
53 h.						— 0,393	— 0,390	— 0,413
55 h.	— 0,422	— 0,435	— 0,450	— 0,453	— 0,407	— 0,394	— 0,390	— 0,414
72 h.	— 0,424	— 0,430	— 0,450	— 0,454	— 0,402	— 0,398	— 0,388	— 0,422
80 h.	— 0,426	— 0,434	— 0,450	— 0,456	— 0,401	— 0,398	— 0,395	— 0,425
96 h.	— 0,425	— 0,430	— 0,449	— 0,452	— 0,402	— 0,399	— 0,393	— 0,425
119 h.	— 0,425	— 0,428	— 0,445	— 0,450	— 0,400	— 0,399	— 0,400	— 0,425
127 h.	— 0,425	— 0,428	— 0,449	— 0,458	— 0,400	— 0,405	— 0,407	— 0,429
142 h.	— 0,423	— 0,424	— 0,450	— 0,448	— 0,398	— 0,404	— 0,407	— 0,425
149 h.	— 0,426	— 0,423	— 0,448	— 0,453	— 0,392	— 0,400	— 0,400	
151 h.	— 0,427	— 0,426	— 0,445	— 0,451	— 0,400	— 0,396	— 0,393	
166 h.	— 0,425	— 0,425	— 0,447	— 0,449	— 0,401	— 0,398	— 0,395	
175 h.	— 0,425	— 0,417	— 0,449	— 0,441	— 0,397	— 0,397	— 0,392	
190 h.	— 0,422	— 0,422	— 0,451	— 0,448	— 0,400	— 0,394	— 0,392	$pH = 7,12$
	$pH=7,10$ à 37°	$pH=7,00$ à 37°	$pH=7,40$ à 37°	$pH=7,14$ à 37°	$pH = 7,21$ à 37° $E_h = -0,400$ $E_0 = +0,064$	$pH = 7,27$ à 37° $E_h = -0,400$ $E_0 = +0,068$	$pH = 7,24$ à 37° $E_h = -0,400$ $E_0 = +0,066$	$E_h = -0,425$ $E_0 = +0,0022$

TABLEAU XIII

Hypoxanthine M/68 dans NaOH N/10 ; Acide urique M/68 dans NaOH N/10 ; Xanthine M/68 dans NaOH N/10 ; Déshydrase 1 % dans tampon M de $pH = 6,9$; Méthylviologène 10^{-4} M.

Chaque tube contient : 1 cm^3 hypoxanthine, 3 cm^3 déshydrase, 0,2 cm^3 méthylviologène. Dans le tube n° 1 on ajoute 1 cm^3 tampon. Dans le tube n° 2 1 cm^3 hypoxanthine. Dans les tubes n°s 3 et 4 on ajoute 1 cm^3 acide urique dès le début. Dans le tube n° 5 on ajoute 1 cm^3 acide urique lorsque l'équilibre est atteint, au moment indiqué par un astérisque. Dans le tube n° 6 on ajoute 1 cm^3 xanthine lorsque l'équilibre est atteint.

Heures	Numéros des tubes			Heures	Numéros des tubes		
	1	2	3		4	5	6
	E_h volt	E_h volt	E_h volt		E_h volt	E_h volt	E_h volt
2 h.	+ 0,147	+ 0,180	+ 0,161	2 h. 30	+ 0,210	+ 0,150	+ 0,214
4 h.	— 0,331	— 0,426	— 0,374	5 h.	— 0,238	— 0,301	— 0,378
6 h.	— 0,426	— 0,443	— 0,387	7 h.	— 0,383	— 0,402	— 0,422
8 h.	— 0,440	— 0,452	— 0,392	9 h.	— 0,389	— 0,413	— 0,431
22 h.	— 0,457	— 0,465	— 0,407	23 h.	— 0,403	— 0,442	— 0,449
24 h. 30	— 0,457	— 0,467	— 0,408	27 h.	— 0,398	— 0,440	— 0,448
30 h.	— 0,460	— 0,468	— 0,410	31 h.	— 0,402	— 0,442	— 0,450
46 h.	— 0,458	— 0,466	— 0,412	48 h.	— 0,384	— 0,443	— 0,452
51 h. 30	— 0,457	— 0,463	— 0,415			+ 1 cm^3 acide urique	1 cm^3 xanthine
55 h.	— 0,457	— 0,467	— 0,416	48 h. 20		— 0,429	— 0,437
71 h.	— 0,455	— 0,465	— 0,414	50 h.		— 0,405	— 0,435
74 h. 30	— 0,455	— 0,465	— 0,415	52 h. 30		— 0,407	— 0,435
80 h.	— 0,453	— 0,465	— 0,415	56 h.	— 0,387	— 0,409	— 0,440
96 h.	— 0,453	— 0,465	— 0,413	71 h. 30	— 0,389	— 0,409	— 0,438
100 h.	— 0,458	— 0,463	— 0,416	76 h. 30	— 0,387	— 0,406	— 0,442
103 h. 30	— 0,453	— 0,463	— 0,413	81 h.	— 0,389	— 0,405	— 0,441
118 h.	— 0,453	— 0,461	— 0,413	97 h.	— 0,385	— 0,407	— 0,439
123 h.	— 0,452	— 0,468	— 0,416	101 h.	— 0,384	— 0,407	— 0,440
127 h. 30	— 0,450	— 0,460	— 0,414	104 h. 30	— 0,386	— 0,404	— 0,440
144 h.	— 0,447	— 0,455	— 0,413	119 h.		— 0,402	— 0,440
169 h.	— 0,446	— 0,450	— 0,414	124 h.		— 0,403	— 0,443
172 h.	— 0,446	— 0,450	— 0,414	128 h.		— 0,403	— 0,441
225 h.	— 0,441	— 0,439	— 0,411	144 h.		— 0,399	— 0,439
				170 h.		— 0,400	— 0,442
				173 h. 30		— 0,401	— 0,442
				216 h.		— 0,398	— 0,440
	$pH = 7,21$	$pH = 7,37$	$pH = 7,31$		$pH = 7,09$	$pH = 7,36$	$pH = 7,34$
			$E_h = - 0,414$		$E_h = - 0,386$	$E_h = - 0,402$	$E_h = - 0,440$
			$E_o = + 0,057$		$E_o = + 0,069$	$E_o = + 0,073$	$E_o = + 0,004$

TABLEAU XV

Hypoxanthine M/68 solution dans NaOH N/10 ; Xanthine M/68 dans NaOH N/10 ; Acide urique M/68 (2,47 mgr. pour 1 cm³ NaOH N/10) ; Déshydrase solution à 1 % dans tampon M de pH = 6,9 ; Méthylviologène 10⁻³ M.

Chaque tube contient : 1 cm³ hypoxanthine et 3 cm³ déshydrase. Dans le tube n° 1 il y a encore 1 cm³ méthylviologène et 1 cm³ tampon. Dans le tube n° 2 on ajoute 1 cm³ méthylviologène et 1 cm³ acide urique. Dans le tube n° 3 on ajoute 0,3 cm³ méthylviologène et, lorsque l'équilibre est atteint, 1 cm³ acide urique. Dans le tube n° 4 on ajoute 0,3 cm³ méthylviologène et, lorsque l'équilibre est atteint, 1 cm³ xanthine.

Heures	Numéros des tubes		Heures	Numéros des tubes	
	1	2		3	4
	E _h volt	E _h volt		E _h volt	E _h volt
2 h.	— 0,393	— 0,353	30 m.	+ 0,335	+ 0,337
4 h.	— 0,430	— 0,400	1 h. 50	+ 0,040	+ 0,022
6 h.	— 0,439	— 0,404	3 h.	— 0,416	— 0,398
21 h.	— 0,451	— 0,412	20 h.	— 0,454	— 0,450
29 h.	— 0,451	— 0,410	28 h.	— 0,454	— 0,450
45 h. 30	— 0,451	— 0,412	43 h. 30	— 0,453	— 0,450
54 h.	— 0,445	— 0,410	43 h. 45	1 cm ³ acide urique	1 cm ³ xanthine
70 h.	— 0,445	— 0,410	45 h.	— 0,427	— 0,451
78 h.	— 0,442	— 0,410	46 h. 30	— 0,390	— 0,446
99 h.	— 0,442	— 0,412	49 h. 30	— 0,390	— 0,442
119 h.	— 0,436	— 0,410	52 h.	— 0,392	— 0,439
125 h.	— 0,438	— 0,410	52 h.	— 0,397	— 0,439
			69 h.	— 0,396	— 0,437
			76 h.	— 0,396	— 0,438
			91 h. 30	— 0,396	— 0,436
			100 h.	— 0,397	— 0,434
			120 h.	— 0,394	— 0,425
			124 h.	— 0,404	— 0,426
			140 h.	— 0,400	— 0,428
			147 h.	— 0,401	— 0,424
			164 h.	— 0,398	
			171 h.	— 0,400	
			188 h. 30	— 0,392	
			195 h.	— 0,400	
			212 h.	— 0,398	
	pH = 7,13 à 37°	pH = 7,29 à 37°		pH = 7,24	pH = 7,21
		E _h = — 0,410 E _o = + 0,060		E _h = — 0,397 E _o = + 0,079	E _h = — 0,428 E _o = + 0,004

La figure 6 correspond aux mesures du tableau XIV. Elle montre qu'une fois le potentiel établi dans un mélange de diastase, de méthylviologène et d'hypoxanthine, l'addition d'acide urique en quantité équimoléculaire par rapport à l'hypoxanthine initiale fait remonter le potentiel à la même valeur qu'il atteint directement en présence d'un mélange équimoléculaire d'hypoxanthine et d'acide urique.

Dans chaque série de déterminations des expériences témoins sont faites soit pour montrer que l'acide urique et la diastase seuls ou en présence de l'un ou de l'autre ne réduisent pas le chlorure de diméthyle- $\gamma\gamma'$ -dipyridile, ou que d'autres corps, comme la guanine ou de simples solutions de diastase ou de phosphate n'oxydent pas comme l'acide urique le leuco-dérivé de ce même colorant.

On voit que les valeurs moyennes de E_0 , ainsi calculées, sont à l'erreur des expériences près les mêmes.

Le tableau XVI donne le résultat des mesures effectuées pour réaliser l'équilibre en partant de la forme oxydée, l'acide urique. Les mesures consistent

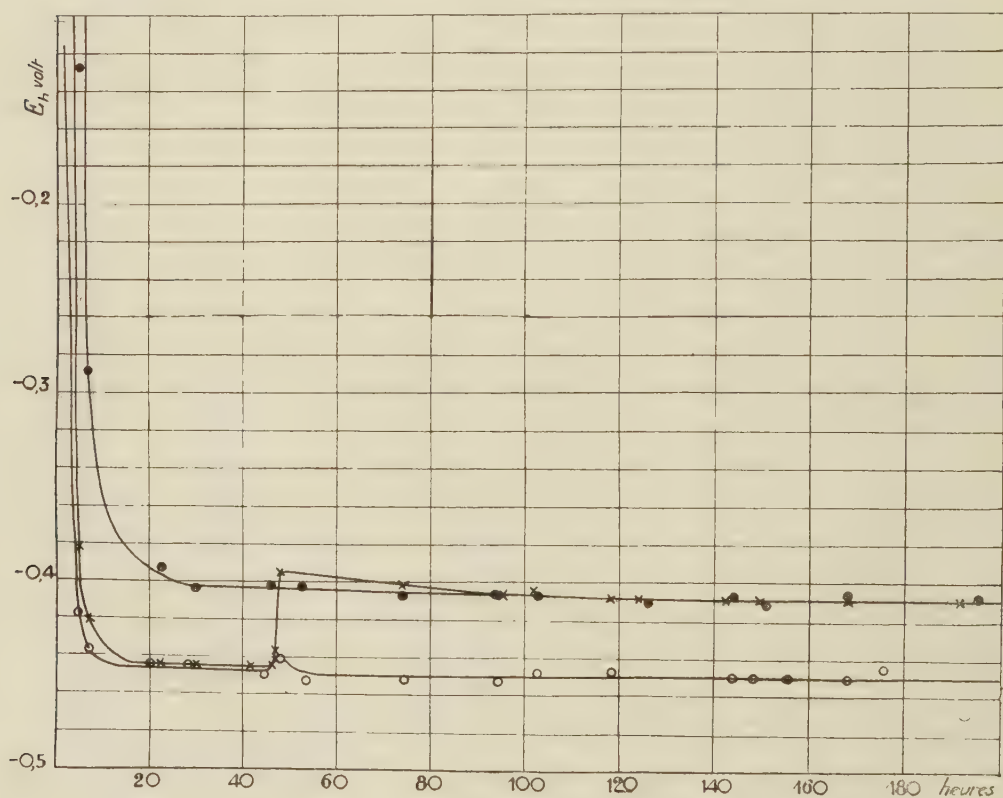


Fig. 6.

à suivre la variation du potentiel d'une électrode de platine, plongée dans le mélange de chlorure de diméthyle- $\gamma\gamma'$ -dipyridile réduit, d'acide urique et de diastase. J'ai opéré de la manière suivante.

On introduit dans la partie principale des tubes THUNBERG 2 cm³ de phosphate monosodique M pH = 7,2, 1 cm³ de chlorure de diméthyle- $\gamma\gamma'$ -dipyridile 10⁻³ M

(solution aqueuse) 0,5 cm³ ou 1 cm³ d'hydrosulfite de Na (solution de 0,12 gr. % dans le même tampon monosodique).

Lorsque ce mélange a atteint son équilibre, on y ajoute 1 cm³ d'acide urique M/68 [solution dans NaOH N/10] et 1 cm³ de diastase [solution à 1 % dans tampon M pH = 7,2 de phosphate monosodique] que l'on avait disposé dans le tube latéral des tubes THUNBERG.

On voit d'après le tableau XVI et les courbes de la figure 7 que lorsque

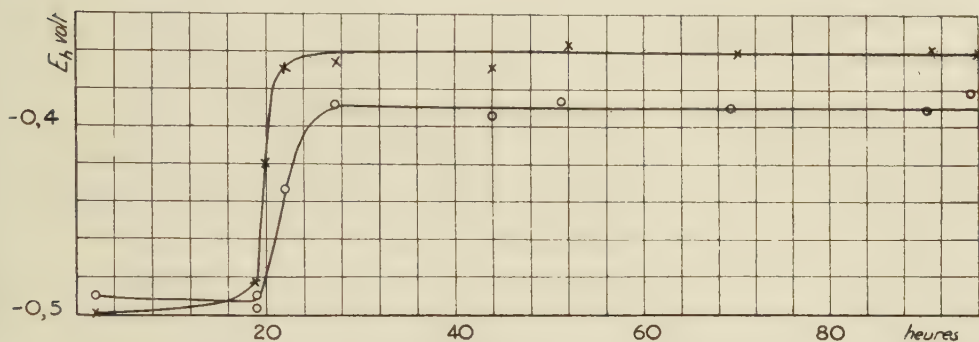


Fig. 7.

l'on ajoute l'acide urique le potentiel remonte. Ce potentiel finit par atteindre une valeur présentant par rapport au potentiel normal E_0' obtenu dans les mesures précédentes un écart qui doit pouvoir s'exprimer par la relation :

$$- \frac{1}{0,4343} \cdot \frac{RT}{4F} \log \frac{(\text{hypox.})}{(\text{ac. urique})}, \quad (\text{XXIV})$$

(hypox) (*) étant la concentration de l'hypoxanthine formée au cours de la réaction et (ac. urique) étant la concentration de l'acide urique restant une fois l'équilibre établi.

(*) Dans ce calcul, comme les précédents, nous avons négligé les écarts entre les activités et les concentrations des constituants du système à l'équilibre.

TABLEAU XVI

Acide urique M/68 [2,47 mgr. pour 1 cm³ NaOH N/10] ; Hypoxanthine M/68 [2 mgr. pour 1 cm³ NaOH N/10] ; Méthylviologène 10⁻³ M ; Déshydrase solution à 1 % dans tampon M de pH = 7,2 ; Hydrosulfite de Na solution à 0,12 % dans tampon M de pH = 7,2.

Chaque tube contient : 2 cm³ de tampon M de phosphate de pH = 7,2, 1 cm³ méthylviologène, 0,5 cm³ solution d'hydrosulfite. Dans le tube n° 1 on ajoute, lorsque l'équilibre est atteint, 1 cm³ acide urique et 1 cm³ déshydrase. Dans le tube n° 2 on ajoute au début 0,5 cm³ solution d'hydrosulfite et, lorsque l'équilibre est atteint, on ajoute 1 cm³ d'acide urique et 1 cm³ de déshydrase. Dans le tube n° 3 il y a aussi, en plus, 0,5 cm³ d'hydrosulfite et on ajoute, lorsque l'équilibre est atteint, 1 cm³ d'hypoxanthine et 1 cm³ de déshydrase.

Heures	Numéros des tubes		
	1	2	3
	E _h volt	E _h volt	E _h volt
2 h.	— 0,501	— 0,488	— 0,497
19 h.	— 0,481	— 0,496	— 0,511
	mélangé	mélangé	mélangé
19 h. 30	— 0,419	— 0,494	— 0,523
22 h.	— 0,369	— 0,433	— 0,519
27 h. 30	— 0,366	— 0,389	— 0,515
44 h.	— 0,369	— 0,394	— 0,493
51 h.	— 0,357	— 0,385	— 0,495
70 h.	— 0,360	— 0,389	— 0,497
91 h.	— 0,359	— 0,390	— 0,498
95 h.	— 0,359	— 0,389	— 0,495
	pH = 7,01	pH = 7,21	pH = 7,19

On calcule ces valeurs à partir de la quantité de colorant et d'hydrosulfite introduits.

La comparaison de l'écart expérimental $\Delta E_{\text{obs.}}$ avec la valeur calculée d'après la relation (XXIV) fournit les résultats suivants :

Tube 1 : $\Delta E_{\text{calculé.}} = 0,019 \text{ volt.}$ $\Delta E_{\text{obs.}} = 0,027 \text{ volt.}$

Tube 2 : $\Delta E_{\text{calculé.}} = 0,014 \text{ volt.}$ $\Delta E_{\text{obs.}} = 0,015 \text{ volt.}$

14. Équilibre entre la xanthine et l'acide urique. — La détermination de l'équilibre xanthine $\rightleftharpoons$ acide urique a été effectuée de la même manière que celle de l'équilibre hypoxanthine $\rightleftharpoons$ acide urique.

Les seules différences sont dûes aux conditions particulières de solubilité de la xanthine. Ce corps est extrêmement peu soluble dans l'eau. Avant de l'introduire dans le mélange tamponné, il fallait le dissoudre dans de la soude N/10

et on ne pouvait opérer que dans des solutions dont l'activité en ions H^+ était supérieure à $10^{-7,5}$.

Les tableaux XVII à XXI montrent les différentes valeurs des potentiels observés et du potentiel normal calculé à partir de ces données. Le tableau XVIII comprend les mesures effectuées à pH 8,4 qui montrent que pour cette activité en ions H^+ le méthylviologène a un potentiel normal trop écarté de celui des oxypurines à 38°.

TABLEAU XVII

Xanthine $1,47 \cdot 10^{-2}$ M (2,23 mgr. pour 1 cm³ NaOH N/10) ; Acide urique $1,47 \cdot 10^{-2}$ M (2,5 mgr. pour 1 cm³ tampon Benedict) ; Méthylviologène 10^{-3} M ; Déshydrase solution 1 % dans tampon M pH = 7,39.

Chaque tube contient : 1 cm³ de xanthine, 1 cm³ de déshydrase, 1 cm³ méthylviologène, 2 cm³ tampon M de phosphate pH = 7,39. Dans le tube n° 2 on ajoute 1 cm³ acide urique lorsque l'équilibre est atteint, le moment est indiqué par un astérisque. Dans les tubes nos 3, 4, 5, 6 et 7 on ajoute 1 cm³ d'acide urique dès le début. Dans le tube n° 1 on ajoute 1 cm³ tampon de Benedict pour que la force ionique des solutions et le volume du liquide soient les mêmes que dans les autres.

Heures	Numéros des tubes						
	1	2	3	4	5	6	7
	E_h volt	E_h volt	E_h volt	E_h volt	E_h volt	E_h volt	E_h volt
18 h.	— 0,439	— 0,441	— 0,421	— 0,422	— 0,420	— 0,426	— 0,421
44 h.	— 0,445	— 0,447	— 0,421	— 0,421	— 0,421	— 0,426	— 0,421
		* mélange					
47 h.	— 0,444	— 0,430	— 0,421	— 0,421	— 0,421	— 0,426	— 0,421
49 h. 30	— 0,445	— 0,425	— 0,421	— 0,421	— 0,421	— 0,427	— 0,420
70 h.	— 0,444	— 0,423	— 0,421	— 0,421	— 0,420	— 0,423	— 0,419
90 h.	— 0,445	— 0,424	— 0,419	— 0,420	— 0,421	— 0,424	— 0,420
97 h. 30	— 0,446	— 0,425	— 0,421	— 0,421	— 0,421	— 0,424	— 0,420
119 h.	— 0,444	— 0,426	— 0,419	— 0,420	— 0,418	— 0,424	— 0,422
143 h.	— 0,443	— 0,424	— 0,419	— 0,418	— 0,420	— 0,424	— 0,420
166 h.	— 0,444	— 0,422	— 0,420	— 0,422	— 0,422	— 0,425	— 0,419
186 h.	— 0,443	— 0,425	— 0,421	— 0,421	— 0,419	— 0,425	— 0,420
210 h.	— 0,440	— 0,423	— 0,419	— 0,420	— 0,420	— 0,422	— 0,419
	pH = 7,67	pH = 7,65	pH = 7,66	pH = 7,70	pH = 7,65	pH = 7,60	pH = 7,60
		$E_0 = +0,112$	$E_0 = +0,116$	$E_0 = +0,119$	$E_0 = +0,115$	$E_0 = +0,107$	$E_0 = +0,111$

TABLEAU XVIII

Xanthine $7,35 \cdot 10^{-3}$ M (1,1 mgr. pour 1 cm^3 NaOH N/10) ; Acide urique $7,35 \cdot 10^{-3}$ M (1,24 mgr. pour 1 cm^3 NaOH N/10) ; Déshydrase solution à 1 % dans tampon M de $pH = 7,3$; Méthylviologène 10^{-3} M.

Chaque tube contient : 1 cm^3 déshydrase, 1 cm^3 méthylviologène, 2 cm^3 tampon M $pH = 7,3$. Dans les tubes n^{os} 1 et 2 on ajoute 1 cm^3 xanthine et 1 cm^3 NaOH 10/N. Dans le tube n^o 3 on ajoute 1 cm^3 acide urique et 1 cm^3 NaOH.10/N. Dans les tubes n^{os} 4 et 5 on ajoute 1 cm^3 xanthine et 1 cm^3 acide urique.

Heures	Numéros des tubes				
	1	2	3	4	5
	E_h volt	E_h volt	E_h volt	E_h volt	E_h volt
3 h.	— 0,400	— 0,397	+ 0,287	+ 0,317	+ 0,357
21 h.	— 0,485	— 0,483	— 0,005	— 0,461	— 0,439
28 h.	— 0,487	— 0,483	— 0,005	— 0,462	— 0,454
44 h.	— 0,489	— 0,483	— 0,010	— 0,464	— 0,462
68 h.	— 0,489	— 0,482	— 0,029	— 0,465	— 0,463
91 h.	— 0,489	— 0,484	— 0,033	— 0,465	— 0,463
117 h.	— 0,488	— 0,484	— 0,188	— 0,464	— 0,462
143 h.	— 0,487	— 0,485	— 0,192	— 0,465	— 0,464
165 h.	— 0,486	— 0,483	— 0,193	— 0,463	— 0,463
194 h.	— 0,486	— 0,483	— 0,193	— 0,465	— 0,464
	$pH = 8,50$	$pH = 8,34$	$pH = 8,37$	$pH = 8,35$ $E_0 = + 0,137$	$pH = 8,37$ $E_0 = + 0,138$

TABLEAU XIX

Xanthine M/68 (I) [2,23 mgr. pour 1 cm^3 NaOH N/10] ; (II) Xanthine M/68 [2,23 mgr. pour 1 cm^3 tampon de Bénédic] ; Acide urique M/68 [2,47 mgr. pour 1 cm^3 tampon de Bénédic] ; Déshydrase solution à 1 % dans tampon M de $pH = 7,36$; Méthylviologène 10^{-3} M.

Chaque tube contient : 1 cm^3 xanthine (I), 1 cm^3 déshydrase, 1 cm^3 méthylviologène, 2 cm^3 tampon M de $pH = 7,36$. N^o 1 + 1 cm^3 tampon de Bénédic, n^o 2 + 1 cm^3 xanthine (II), n^o 3 + 1 cm^3 xanthine (I) ; n^{os} 4, 5 et 6 + à l'équilibre 1 cm^3 acide urique ; n^o 7 + à l'équilibre 1 cm^3 hypoxanthine.

Heures	Numéros des tubes						
	1	2	3	4	5	6	7
	E_h volt	Z_h volt	E_h volt	E_h volt	E_h volt	E_h volt	E_h volt
1 h. 30	— 0,390	— 0,387	— 0,375	— 0,398	— 0,377	— 0,388	— 0,399
17 h.	— 0,415	— 0,416	— 0,409	— 0,440	— 0,434	— 0,435	— 0,434
25 h.	— 0,428	— 0,428	— 0,427	— 0,442	— 0,438	— 0,440	— 0,440
44 h.	— 0,440	— 0,438	— 0,433	— 0,443	— 0,439	— 0,439	— 0,439
47 h.	— 0,440	— 0,438	— 0,432	— 0,441	— 0,439	— 0,439	— 0,440
				mélangé	mélangé	mélangé	mélangé
49 h.	— 0,441	— 0,439	— 0,438	— 0,423	— 0,417	— 0,415	— 0,428
68 h.	— 0,441	— 0,439	— 0,439	— 0,423	— 0,418	— 0,415	— 0,446
76 h.	— 0,439	— 0,439	— 0,438	— 0,423	— 0,417	— 0,417	— 0,446
89 h.	— 0,437	— 0,435	— 0,438	— 0,422	— 0,414	— 0,414	— 0,453
97 h.	— 0,438	— 0,426	— 0,437	— 0,423	— 0,415	— 0,417	— 0,453
114 h.	— 0,439	— 0,435	— 0,435	— 0,421	— 0,416	— 0,413	— 0,452
121 h.	— 0,439	— 0,436	— 0,436	— 0,419	— 0,413	— 0,415	— 0,453
138 h.	— 0,439	— 0,435	— 0,435	— 0,420	— 0,415	— 0,414	— 0,454
160 h.	— 0,439	— 0,434	— 0,435	— 0,420	— 0,414	— 0,416	— 0,454
	$pH = 7,59$	$pH = 7,60$	$pH = 7,59$	$pH = 7,68$	$pH = 7,62$	$pH = 7,60$	$pH = 7,65$
				$E_0 = + 0,117$	$E_0 = + 0,119$	$E_0 = + 0,116$	$E_0 = + 0,006$

TABLEAU XX

Xanthine M/68 (2,23 mgr. pour 1 cm³ NaOH N/10) ; Acide urique M/68 (2,47 mgr. pour 1 cm³ tampon Bénédict) ; Déshydrase solution à 1 % dans tampon M de pH = 7,36 ; Méthylviologène 10⁻³ M. Chaque tube contient : 1 cm³ xanthine, 1 cm³ déshydrase, 1 cm³ méthylviologène, 2 cm³ tampon M de phosphate pH = 7,36. Dans les tubes nos 1 et 2 on ajoute 1 cm³ tampon de Bénédict. Dans le tube n° 3 on ajoute 1 cm³ xanthine. Dans les tubes nos 4, 5 et 6 on ajoute 1 cm³ acide urique.

Heures	Numéros des tubes					
	1	2	3	4	5	6
	E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt
1 h	— 0,390	— 0,349	— 0,360	— 0,179	— 0,195	— 0,203
2 h	— 0,425	— 0,422	— 0,423	— 0,374	— 0,405	— 0,403
19 h	— 0,440	— 0,439	— 0,443	— 0,408	— 0,413	— 0,411
27 h	— 0,438	— 0,438	— 0,438	— 0,410	— 0,412	— 0,411
43 h	— 0,440	— 0,442	— 0,438	— 0,412	— 0,411	— 0,412
51 h	— 0,438	— 0,438	— 0,438	— 0,412	— 0,411	— 0,410
68 h	— 0,439	— 0,439	— 0,437	— 0,410	— 0,411	— 0,411
74 h	— 0,438	— 0,440	— 0,438	— 0,411	— 0,411	— 0,410
91 h	— 0,439	— 0,439	— 0,437	— 0,411	— 0,411	— 0,411
99 h	— 0,439	— 0,439	— 0,435	— 0,411	— 0,409	— 0,408
116 h	— 0,436	— 0,437	— 0,434	— 0,411	— 0,407	— 0,407
122 h	— 0,436	— 0,438	— 0,434	— 0,409	— 0,409	— 0,410
141 h	— 0,437	— 0,437	— 0,435	— 0,409	— 0,411	— 0,410
147 h	— 0,436	— 0,436	— 0,435	— 0,409	— 0,410	— 0,410
169 h	— 0,435	— 0,435	— 0,435	— 0,409	— 0,410	— 0,409
192 h	— 0,434	— 0,434	— 0,435	— 0,409	— 0,410	— 0,409
pH = 7,54		pH = 7,55	pH = 7,54	pH = 7,52	pH = 7,50	pH = 7,47
				E ₀ = + 0,114	E ₀ = + 0,112	E ₀ = + 0,110

TABLEAU XXI

Xanthine 1,47 · 10⁻² M (2,23 mgr. pour 1 cm³ NaOH N/10) ; Acide urique 1,47 · 10⁻² M (2,47 mgr. pour 1 cm³ tampon Bénédict) ; Méthylviologène 10⁻³ M ; Déshydrase solution à 1 % dans tampon M de pH = 7,39. Chaque tube contient : 1 cm³ xanthine, 1 cm³ déshydrase, 1 cm³ méthylviologène et 2 cm³ tampon M pH = 7,39. Dans les tubes nos 1 et 2 on ajoute 1 cm³ tampon de Bénédict. Dans les tubes nos 3, 4, 5 et 6 on ajoute 1 cm³ acide urique dès le début.

Heures	Numéros des tubes					
	1	2	3	4	5	6
	E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt
3 h.	+ 0,016	+ 0,023	+ 0,020	+ 0,020	+ 0,030	+ 0,031
6 h.	— 0,385	— 0,390	— 0,361	— 0,370	— 0,379	— 0,367
16 h.	— 0,439	— 0,440	— 0,415	— 0,420	— 0,418	— 0,418
24 h.	— 0,442	— 0,446	— 0,413	— 0,422	— 0,420	— 0,418
40 h.	— 0,443	— 0,447	— 0,418	— 0,420	— 0,419	— 0,418
65 h.	— 0,443	— 0,449	— 0,417	— 0,421	— 0,420	— 0,420
72 h.	— 0,440	— 0,448	— 0,422	— 0,421	— 0,419	— 0,419
88 h.	— 0,440	— 0,447	— 0,422	— 0,419	— 0,419	— 0,419
115 h.	— 0,441	— 0,447	— 0,420	— 0,421	— 0,420	— 0,420
141 h.	— 0,439	— 0,447	— 0,421	— 0,421	— 0,419	— 0,419
161 h.	— 0,438	— 0,447	— 0,422	— 0,420	— 0,420	— 0,418
168 h.	— 0,440	— 0,446	— 0,420	— 0,420	— 0,420	— 0,419
189 h. 30	— 0,439	— 0,444	— 0,421	— 0,421	— 0,420	— 0,418
212 h.	— 0,439	— 0,445	— 0,420	— 0,420	— 0,420	— 0,418
pH = 7,54		pH = 7,70	pH = 7,62	pH = 7,65	pH = 7,64	pH = 7,64
			E ₀ = + 0,113	E ₀ = + 0,110	E ₀ = + 0,107	E ₀ = + 0,108

La figure 8 correspond aux mesures des tableaux XIX et XXI. Elle montre qu'une fois le potentiel établi dans un mélange de diastase, de méthylviologène et de xanthine, l'addition d'acide urique en quantité équimoléculaire par rapport à la xanthine initiale fait remonter le potentiel à la valeur qu'il atteint directement quand on a affaire dès le début à un mélange équimoléculaire de xanthine et d'acide urique.

J'ai fait un certain nombre de mesures en remplaçant les tubes de THUNBERG-

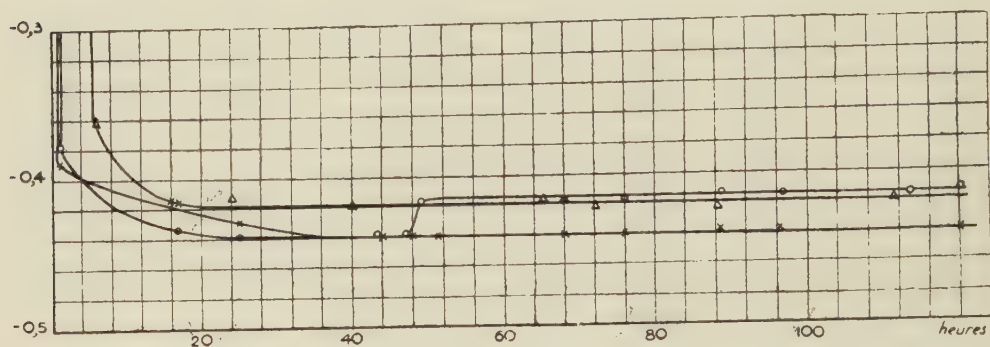


Fig. 8.

BORSOOK par des piles closes de WURMSER et GELOSO. Les tableaux suivants indiquent les résultats. On voit que les potentiels sont les mêmes que ceux obtenus avec la technique ordinaire.

TABLEAU XXII

Chaque pile contient : dans un des tubes les constituants d'une électrode au calomel moléculaire et dans l'autre tube 1 cm³ xanthine M/68 [2,23 mgr. pour 1 cm³ NaOH N/10], 1 cm³ acide urique M/68 [2,47 mgr. pour 1 cm³ tampon Bénédict], 1 cm³ déshydrase solution à 1 % dans tampon M de PO₄H₂Na pH = 7,3, 1 cm³ méthylviologène 10⁻³ M et 2 cm³ tampon M de phosphate pH = 7,3.

Numéros des piles	E _h en volt de l'électrode en calomel	E _h en volt solution à 38°	pH solution à 38°	E ₀ à 38°	A 38° pendant 123 heures
1	+ 0,272	— 0,408	7,47	+ 0,111	
2	+ 0,272	— 0,414	7,48	+ 0,106	
3	+ 0,268	— 0,412	7,47	+ 0,107	
4	+ 0,264	— 0,407	7,44	+ 0,110	

Valeur moyenne de E₀ = + 0,1085.

TABLEAU XXIII

Chaque pile contient : dans un des tubes les constituants d'une électrode au calomel moléculaire et dans l'autre tube 1 cm³ xanthine M/68 [2,23 mgr. pour 1 cm³ NaOH N./10] 1 cm³ acide urique M/68 [2,47 mgr. pour 1 cm³ tampon de Bénédict] 1 cm³ méthylviologène 10⁻³ M, 1 cm³ déshydrase solution à 1 % dans tampon M de PO₄H₂Na de pH = 7,7 et 2 cm³ tampon M de phosphate pH = 7,7.

Numéros des piles	E _h en volt de l'électrode en calomel	E _h en volt solution à 38°	pH solution à 38°	E ₀ à 38°	
1	0,264	— 0,470	8,10	+ 0,107	A 38° pendant 72 heures
2	0,266	— 0,468	8,08	+ 0,107	
3	0,259	— 0,461	8,04	+ 0,110	

Valeur moyenne de E₀ = + 0,1080.

15. Influence de la concentration ionique. — Nous comparerons maintenant les valeurs des potentiels normaux E₀ obtenus quand la valeur de la force ionique des solutions varie de 1,137 à 0,0323.

La force ionique μ d'une solution contenant différents ions, a , b , c , dont les valences respectives sont Z_a, Z_b, Z_c, est

$$\mu = Z_a^2(a) + Z_b^2(b) + Z_c^2(c) + \dots$$

(a), (b) et (c) étant les molarités de chaque ion.

Nous devons, en effet, considérer maintenant l'influence possible de la concentration ionique sur les écarts entre activités et concentrations, écarts que nous avons jusqu'ici négligés systématiquement. Si l'on ne remplace plus dans l'équation (XVIII) les activités par les concentrations, on obtient :

1° Pour l'acide urique

$$(\text{ac. urique}) = f_{\text{UH}_3}(\text{UH}_3) + f_{\text{UH}_2^-} \frac{K_1(\text{UH}_3)}{[\text{H}^+]} + f_{\text{UH}^-} \frac{K_1 K_2(\text{UH}_3)}{[\text{H}^+]^2} + f_{\text{U}^{3-}} \frac{K_1 K_2 K_3(\text{UH}_3)}{[\text{H}^+]^3}$$

d'où

$$(\text{ac. urique}) = (\text{UH}_3) \frac{[\text{H}^+]^3 f_{\text{UH}_3} + [\text{H}^+]^2 f_{\text{UH}_2^-} K_1 + [\text{H}^+] f_{\text{UH}^-} K_1 K_2 + f_{\text{U}^{3-}} K_1 K_2 K_3}{[\text{H}^+]^3}, \quad (\text{XXV})$$

en appelant f_{UH_3} , $f_{\text{UH}_2^-}$, f_{UH^-} et $f_{\text{U}^{3-}}$ les coefficients d'activité et en remplaçant les crochets par des parenthèses pour désigner les concentrations.

2° Pour l'hypoxanthine

$$\begin{aligned} (\text{hypox}) &= f_{\text{Hy}}(\text{Hy}) + f_{\text{Hy}^-}(\text{Hy}^-), \\ (\text{Hy}) &= \frac{(\text{hypox})[\text{H}^+]}{f_{\text{Hy}}[\text{H}^+] \cdot f_{\text{Hy}^-} K_{\text{Hy}}}, \end{aligned} \quad (\text{XXVI})$$

où f_{Hy} et f_{Hy^-} sont les coefficients d'activité.

3° Pour la xanthine

$$(\text{xanth}) = f_{\text{x}a}(Xa) + f_{\text{x}a-} \frac{K_{1\text{x}a}(Xa)}{[\text{H}^+]} + f_{\text{x}a=} \frac{K_{1\text{x}a} \cdot K_{2\text{x}a}(Xa)}{[\text{H}^+]^2},$$

en appelant $f_{\text{x}a}$, $f_{\text{x}a-}$, $f_{\text{x}a=}$ les coefficients d'activité comme précédemment.

$$(Xa) = (\text{xanth}) \frac{[\text{H}^+]^3}{f_{\text{x}a}[\text{H}^+]^3 + f_{\text{x}a-}K_{1\text{x}a}[\text{H}^+]^2 + f_{\text{x}a=}K_{1\text{x}a} \cdot K_{2\text{x}a}[\text{H}^+]} \quad (\text{XXVII})$$

On peut cependant continuer à admettre que les activités ne diffèrent pas sensiblement des concentrations pour les molécules non dissociées : UH_3 , Xa et Hy .

D'autre part, tous les termes, à l'exception de celui qui comprend le coefficient d'activité de UH_2^- , disparaissent quand on donne aux constantes et à l'activité des ions H^+ leurs valeurs numériques.

Il reste finalement à connaître le coefficient d'activité du seul ion correspondant à une dissociation notable, c'est-à-dire la première dissociation de l'acide urique dont la constante est K_1 .

Comme, d'autre part, la valeur vraie de cette constante de dissociation n'a pas été déterminée et que l'on connaît seulement la valeur de la constante apparente $K_1' = 8 \cdot 10^{-6}$ on aboutit pour le système hypoxanthine $\rightleftharpoons$ acide urique à l'équation :

$$E_{\text{hypox}} = E_0 - \frac{RT}{4\mathcal{F}} \frac{1}{0,4343} \log \frac{(\text{hypox.})}{(\text{ac. urique})} - \frac{RT}{4\mathcal{F}} \frac{1}{0,4343} \cdot \frac{[\text{H}^+]^2 K_1 f_{\text{UH}_2^-} + [\text{H}^+]^3}{\varphi [\text{H}^+]^3} + \frac{RT}{\mathcal{F}} \cdot \frac{1}{0,4343} \log [\text{H}^+] \quad (\text{XXVIII})$$

en appelant φ le coefficient d'activité de UH_2^- pour la force ionique correspondant aux conditions expérimentales dans lesquelles a été déterminée cette constante apparente.

On a pour le système xanthine $\rightleftharpoons$ acide urique :

$$E_{\text{xanth}} = E_0 - \frac{RT}{2\mathcal{F}} \cdot \frac{1}{0,4343} \log \frac{(\text{xanth.})}{(\text{ac. urique})} - \frac{RT}{2\mathcal{F}} \frac{1}{0,4343} \log \frac{[\text{H}^+]^2 K_1 f_{\text{UH}_2^-} [\text{H}^+]^3}{\varphi [\text{H}^+]^3} + \frac{RT}{\mathcal{F}} \cdot \frac{1}{0,4343} \log [\text{H}^+]. \quad (\text{XXIX})$$

En l'absence de données sur le coefficient d'activité de l'ion monovalent de l'acide urique, nous avons recherché si l'on pouvait mettre en évidence un effet de la concentration totale des ions sur les potentiels.

Nous avons opéré en tubes de THUNBERG-BORSOOK suivant la technique ordinaire.

Les tableaux suivants indiquent les résultats de nos expériences (tableaux XXIV à XXX).

TABLEAU XXIV

Hypoxanthine M/68 [2 mgr. pour 1 cm³ tampon de Bénédict] ; Acide urique M/68 [2,47 mgr. pour 1 cm³ tampon de Bénédict] ; Méthylviologène 10⁻³ M ; Déshydrase solution à 1 % dans tampon M/10 pH = 7,7.

Chaque tube contient : 1 cm³ acide urique, 1 cm³ déshydrase, 1 cm³ méthylviologène, 2 cm³ tampon 10⁻¹ M de phosphate pH = 7,7. Dans les tubes nos 1 et 2 on ajoute 1 cm³ tampon de Bénédict, ce sont des témoins servant à démontrer que l'acide ne réduit pas le méthylviologène. Dans les tubes nos 3, 4 et 5 on ajoute 1 cm³ d'hypoxanthine dès le début.

Heures	Numéros des tubes				
	1	2	3	4	5
	E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt
2 h	+ 0,314	+ 0,335	+ 0,225	—	—
17 h	— 0,062	+ 0,215	— 0,399	— 0,396	— 0,398
65 h	— 0,053	— 0,057	— 0,400	— 0,399	— 0,403
97 h	— 0,054	— 0,056	— 0,403	— 0,398	— 0,404
114 h			— 0,404	— 0,396	— 0,406
165 h			— 0,403	— 0,396	— 0,406
168 h			— 0,400	— 0,395	— 0,406
210 h			— 0,400	— 0,398	— 0,405
235 h	— 0,075	— 0,087	— 0,398	— 0,397	— 0,406
241 h			— 0,403	— 0,398	— 0,406
290 h	— 0,120	— 0,118	— 0,408		
	pH = 7,30	pH = 7,36	pH = 7,42 E _h = — 0,403 E _o = + 0,077	pH = 7,24 E _h = — 0,396 E _o = + 0,070	pH = 7,41 E _h = — 0,406 E _o = + 0,073

TABLEAU XXV

Hypoxanthine M/68 [2 mgr. pour 1 cm³ tampon Bénédict] ; Acide urique M/68 [2,47 mgr. pour 1 cm³ tampon de Bénédict] ; Déshydrase solution à 1 % dans tampon M/10 de pH = 7,15 ; Méthylviologène 10⁻³ M.

Chaque tube contient : 1 cm³ d'hypoxanthine, 1 cm³ de déshydrase, 1 cm³ méthylviologène, 2 cm³ tampon 10⁻¹ M de phosphate pH = 7,15. Dans les tubes nos 4 et 5 on ajoute 1 cm³ acide urique lorsque l'équilibre est atteint, le moment est indiqué par un astérisque. Dans les tubes nos 2 et 3 on ajoute 1 cm³ d'hypoxanthine servant à démontrer qu'un excès de substrat n'influe pas sur la valeur finale du potentiel. Dans le tube n° 1 on ajoute 1 cm³ tampon de Bénédict pour que la force ionique des solutions et le volume du liquide soient les mêmes dans tous les tubes.

Heures	Numéros des tubes				
	1	2	3	4	5
	E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt
1 h. 30	+ 0,005	+ 0,030	— 0,170	+ 0,040	+ 0,020
18 h	— 0,435	— 0,435	— 0,366	— 0,451	— 0,449
25 h	— 0,441	— 0,443	— 0,436	— 0,447	— 0,449
41 h	— 0,438	— 0,437	— 0,444	— 0,447	— 0,445
43 h	— 0,438	— 0,438	— 0,442	— 0,447	— 0,447
46 h	— 0,443	— 0,445	— 0,442	— 0,447	— 0,447
				mélangé	mélangé*
47 h. 30	— 0,443	— 0,445	— 0,439	— 0,422	— 0,421
65 h	— 0,437	— 0,445	— 0,439	— 0,391	— 0,398
90 h	— 0,436			— 0,381	— 0,395
97 h	— 0,436			— 0,385	— 0,385
113 h				— 0,376	— 0,386
120 h				— 0,372	— 0,384
137 h				— 0,370	— 0,381
	pH = 7,05	pH = 7,10	pH = 7,03	pH = 7,00 E _h = — 0,376 E _o = + 0,072	pH = 7,06 E _h = — 0,385 E _o = + 0,067

TABLEAU XXVI

Hypoxanthine M/68 2 mgr. pour 1 cm³ H₂O) ; Acide urique M/68 (2,47 mgr. pour 1 cm³ tampon Bénédict) ; Méthylviologène 10⁻³ M ; Déshydrase solution à 1 %, dans tampon M/10 pH = 7,7.
Chaque tube contient : 1 cm³ hypoxanthine, 1 cm³ acide urique, 1 cm³ méthylviologène, 1 cm³ solution de déshydrase, 2 cm³ tampon de PO₄H₂Na pH = 7,7·10⁻¹ M.

Heures	Numéros des tubes		
	1	2	3
	E _h volt	E _h volt	E _h volt
3 h	— 0,453	— 0,454	— 0,375
19 h	— 0,393	— 0,391	— 0,391
41 h	— 0,405	— 0,403	— 0,403
115 h	— 0,415	— 0,413	— 0,413
138 h	— 0,416	— 0,413	— 0,413
244 h	— 0,412	— 0,411	— 0,409
291 h	— 0,419	— 0,419	— 0,415
	pH = 7,36	pH = 7,36	pH = 7,34
	E _h = — 0,416	E _h = — 0,413	E _h = — 0,413
	E ₀ = + 0,059	E ₀ = + 0,062	E ₀ = + 0,061

TABLEAU XXVII

Hypoxanthine M/68 [2 mgr. pour 1 cm³ H₂O] ; Acide urique M/136 [2,47 mgr. pour 2 cm³ tampon M/50 PO₄H₂Na et NaOH de pH = 8,6] ; Méthylviologène 10⁻³ M ; Déshydrase solution à 1 % dans tampon M/50 de phosphate monosodique pH = 8,6.

Chaque tube contient : 1 cm³ d'hypoxanthine, 1 cm³ déshydrasé, 1 cm³ méthylviologène, 1 cm³ tampon M/50 pH = 8,6. Dans les tubes nos 1 et 2 on ajoute 2 cm³ tampon M/50 de phosphate monosodique pH = 8,6. Dans les tubes nos 3 et 4 on ajoute 2 cm³ acide urique.

Heures	Numéros des tubes			
	1	2	3	4
	E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt
16 h	— 0,432	— 0,435	— 0,367	— 0,371
21 h	— 0,434	— 0,444	— 0,374	— 0,374
62 h	— 0,452	— 0,454	— 0,380	— 0,380
88 h	— 0,449	— 0,450	— 0,380	— 0,380
136 h	— 0,449	— 0,449	— 0,389	— 0,385
187 h	— 0,450	— 0,448	— 0,387	— 0,388
	pH = 7,21	pH = 7,20	pH = 7,08	pH = 7,13
			E _h = — 0,388	E _h = — 0,385
			E ₀ = + 0,066	E ₀ = + 0,073

TABLEAU XXVIII

Hypoxanthine M/136 [1 mgr. pour 1 cm³ H²O]; Acide urique M/136 [1,24 mgr. pour 1 cm³ tampon Bénédict]; Méthylviologène 10⁻³ M; Déshydrase solution à 1 % dans tampon M.10⁻² pH = 8,5.

Chaque tube contient : 1 cm³ d'hypoxanthine, 1 cm³ méthylviologène, 1 cm³ déshydrase, 1 cm³ H²O. Dans le tube n° 1 on ajoute 1 cm³ tampon de Bénédict, dans les tubes n°s 2, 3 et 4 on ajoute 1 cm³ acide urique.

Heures	Numéros des tubes			
	1	2	3	4
	E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt
3 h	— 0,372	— 0,014	— 0,111	+ 0,147
26 h	— 0,425	— 0,159	— 0,366	— 0,365
50 h	— 0,432	— 0,355	— 0,378	— 0,378
73 h	— 0,432	— 0,370	— 0,377	— 0,381
119 h	— 0,434	— 0,365	— 0,378	— 0,385
149 h	— 0,437	— 0,367	— 0,379	— 0,385
170 h	— 0,439	— 0,375	— 0,381	— 0,388
197 h	— 0,441	— 0,381	— 0,380	— 0,388
215 h	— 0,439	— 0,374	— 0,380	— 0,384
	pH = 7,14 à 38°	pH = 6,73 à 38°	pH = 7,13 à 38°	pH = 7,13 à 38°
		E _h = — 0,375 E _o = + 0,055	E _h = — 0,380 E _o = + 0,078	E _h = — 0,385 E _o = + 0,073

TABLEAU XXIX

Hypoxanthine M/136 [1 mgr. pour 1 cm³ H²O]; Acide urique M/136 [1,24 mgr. pour 1 cm³ tampon de Bénédict]; Méthylviologène 10⁻³ M; Déshydrase solution à 1 % dans tampon M.10⁻² pH = 7,7.

Chaque tube contient : 1 c.c.³ d'hypoxanthine, 1 c.c.³ déshydrase, 1 cm³ méthylviologène, 2 cm³ H²O. Dans le tube n° 1 on ajoute 1 c.c.³ tampon de Bénédict. Dans le tube n° 2 on ajoute 1 cm³ tampon de Bénédict et 1 cm³ H²O. Dans le tube n° 3 on ajoute 1 cm³ acide urique. Dans les tubes n°s 4, 5, 6 et 7 on ajoute 1 cm³ acide urique et 1 cm³ H²O.

Heures	Numéros des tubes						
	1	2	3	4	5	6	7
	E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt
2 h	— 0,422		— 0,331		— 0,344	— 0,340	— 0,344
5 h	— 0,435		— 0,367				
22 h	— 0,442	— 0,439	— 0,384	— 0,372	— 0,369	— 0,365	— 0,370
43 h	— 0,442	— 0,439	— 0,285	— 0,374	— 0,378	— 0,378	— 0,376
90 h	— 0,442	— 0,440	— 0,388	— 0,384	— 0,379	— 0,382	— 0,381
122 h	— 0,439	— 0,440	— 0,391	— 0,392	— 0,383	— 0,384	— 0,384
138 h	— 0,438	— 0,439	— 0,390	— 0,388	— 0,385	— 0,387	— 0,389
147 h		— 0,440		— 0,394	— 0,386	— 0,386	— 0,388
163 h		— 0,441		— 0,394	— 0,384	— 0,386	— 0,387
190 h		— 0,439		— 0,397	— 0,386	— 0,388	— 0,389
	pH = 7,16 à 38°	pH = 7,23 à 38°	pH = 7,01 à 38°	pH = 7,10 à 38°	pH = 6,93 à 38°	pH = 6,92 à 38°	pH = 7,00 à 38°
			E _h = — 0,389 E _o = + 0,060	E _h = — 0,393 E _o = + 0,063	E _h = — 0,384 E _o = + 0,060	E _h = — 0,386 E _o = + 0,056	E _h = — 0,388 E _o = + 0,060

TABLEAU XXX

Xanthine $1,47 \cdot 10^{-2}$ M [2,23 mgr. pour 1 cm³ NaOH N/10]; Méthylviologène 10^{-3} M; Acide urique $1,47 \cdot 10^{-2}$ M [2,47 mgr. pour 1 cm³ tampon Bénédict]; Déshydrase solution à 1 % dans tampon M/10 pH = 6,3.

Chaque tube contient : 1 cm³ de xanthine, 1 cm³ déshydrase, 1 cm³ méthylviologène et 1 cm³ tampon 10^{-1} M pH = 6,3. Dans les tubes nos 1 et 2 on ajoute 1 cm³ tampon de Bénédict. Dans les tubes nos 3, 4 et 5 on ajoute 1 cm³ acide urique.

Heures	Numéros des tubes				
	1	2	3	4	5
	E_h volt	E_h volt	E_h volt	E_h volt	E_h volt
2 h	— 0,420	— 0,421	— 0,390	— 0,389	— 0,385
18 h	— 0,450	— 0,450	— 0,412	— 0,412	— 0,412
27 h	— 0,450	— 0,449	— 0,412	— 0,411	— 0,411
43 h	— 0,450	— 0,448	— 0,412	— 0,410	— 0,413
73 h	— 0,450	— 0,450	— 0,411	— 0,410	— 0,411
97 h	— 0,448	— 0,446	— 0,409	— 0,410	— 0,411
114 h	— 0,449	— 0,445	— 0,411	— 0,411	— 0,410
135 h	— 0,448	— 0,444	— 0,411	— 0,410	— 0,411
162 h	— 0,448	— 0,444	— 0,410	— 0,410	— 0,410
170 h	— 0,443	— 0,442	— 0,411	— 0,410	— 0,410
	pH = 7,77 à 38°	pH = 7,73 à 38°	pH = 7,54 à 38° $E_h = - 0,411$ $E_o = + 0,114$	pH = 7,57 à 38° $E_h = - 0,410$ $E_o = + 0,117$	pH = 7,59 à 38° $E_h = - 0,411$ $E_o = + 0,119$

Le tableau XXXI résume les valeurs de E_o pour les différentes valeurs de la force ionique.

TABLEAU XXXI

Système hypoxanthine $\rightleftharpoons$ acide urique		Système xanthine $\rightleftharpoons$ Acide urique	
E_o valeur moyenne	μ	E_o valeur moyenne	μ
+ 0,0629	1,1376	+ 0,112	1,0421
+ 0,0662	0,1359	+ 0,119	0,1359
+ 0,0695	0,0330		
+ 0,0634	0,0323		

On voit d'après les résultats mentionnés dans le tableau XXXI que la variation de la concentration totale en ions libres n'a pas sur les propriétés thermodynamiques du système hypoxanthine $\rightleftharpoons$ acide urique une influence suffi-

sante pour que la précision de nos mesures en permette l'étude. Par contre le système xanthine $\rightleftharpoons$ acide urique présente un effet ionique assez notable de 0,007 volt quand μ varie de 1,042 à 0,135.

On peut comparer cette valeur à celle que l'on obtient en supposant applicable au coefficient d'activité de l'acide urique la formule de DEBYE :

$$-\log f = 0,364Z\sqrt{\mu}. \quad (\text{XXX})$$

On trouve que f_{ur} varie de 0,424 à 0,7179 quand la force ionique μ du milieu varie, comme dans notre cas, entre 1,0421 et 0,1359.

L'écart entre ces valeurs du coefficient d'activité de l'acide urique correspond à un abaissement du potentiel normal du système xanthine $\rightleftharpoons$ acide urique de 0,0071. L'accord avec l'expérience est complet.

La raison pour laquelle l'effet ionique est plus faible dans le cas du système hypoxanthine $\rightleftharpoons$ acide urique est qu'une variation donnée du coefficient d'activité de l'acide urique entraîne une variation de potentiel deux fois plus grande quand le nombre d'équivalents échangés est deux fois plus petit.

On utilisera donc en première approximation la relation de DEBYE pour obtenir la valeur de E_0 définitive.

Pour le système hypoxanthine $\rightleftharpoons$ acide urique pour $\mu = 1,0421$

$$E_0 = + 0,0629 + 0,005 = 0,068 \text{ volt}$$

pour $\mu = 0,0323$

$$E_0 = + 0,0634 + 0,0009 = 0,064 \text{ volt}$$

Pour le système xanthine $\rightleftharpoons$ acide urique quand $\mu = 1,0421$

$$E_0 = + 0,112 + 0,0114 = 0,123 \text{ volt}$$

et pour $\mu = 0,1359$

$$E_0 = + 0,119 + 0,0042 = 0,123 \text{ volt.}$$

L'erreur probable des mesures expérimentales sur la valeur de E_0 est de 0,00336 pour le système hypoxanthine-acide urique et de 0,00335 pour le système xanthine $\rightleftharpoons$ acide urique.

L'erreur maxima est de 0,01 volt.

16. Calcul de l'énergie libre. — La moyenne des résultats obtenus pour le potentiel du mélange équimoléculaire d'hypoxanthine et d'acide urique est :

$$E_0 = + 0,068 \pm 0,00336 \text{ volt.}$$

On obtient alors pour la variation d'énergie libre correspondant à cette réaction :

$$\Delta F = - RT \ln K = 4FE_0 = 6300 \text{ calories,}$$

Pour le système xanthine $\rightleftharpoons$ acide urique, la valeur moyenne des E_0 déterminés est :

$$E_0 = + 0,123 \pm 0,00335 \text{ volt.}$$

La variation d'énergie libre correspondant à cette réaction est égale alors à :

$$\Delta F = - RT \ln K = 2FE_0 = 5700 \text{ calories.}$$

Il résulte de la différence des variations d'énergie libre de ces deux réactions

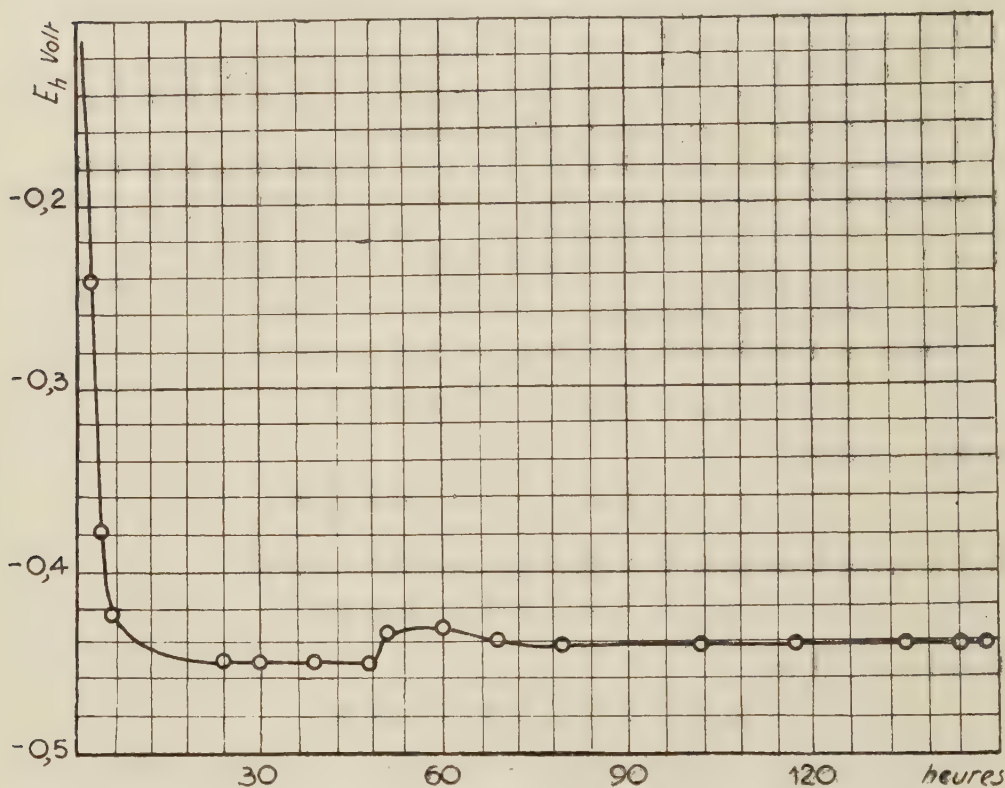


Fig. 9.

que la variation d'énergie libre de l'oxydation hypoxanthine $\rightleftharpoons$ xanthine doit être de :

$$\Delta F = 600 \text{ calories.}$$

La valeur de E_0 doit donc être de :

$$E_0 = + 0,013.$$

C'est ce que montrent les trois expériences dont les résultats sont portés dans les tableaux XII, XIII et XV et sur la courbe de la figure 9. La valeur moyenne obtenue est $E_0 = + 0,006$.

Le potentiel établi dans ces 3 cas correspond bien à l'équilibre hypoxanthine $\rightleftharpoons$ xanthine car l'acide urique formé pendant la réduction du colorant n'atteint que 1 % de l'hypoxanthine initiale, quantité négligeable par rapport aux concentrations d'hypoxanthine et de xanthine.

On remarquera que les potentiels normaux des systèmes hypoxanthine $\rightleftharpoons$ xanthine et xanthine $\rightleftharpoons$ acide urique sont au voisinage de la neutralité très voisins l'un de l'autre et qu'ils s'écartent quand l'acidité augmente.

17. Influence de la température. — Plusieurs séries d'expériences ont été faites pour déterminer le coefficient de température du potentiel des équilibres hypoxanthine $\rightleftharpoons$ acide urique et xanthine $\rightleftharpoons$ acide urique.

Pour cela, une fois l'équilibre atteint à 38°, on a mis les tubes contenant le mélange dans une étuve à 25° (Tableaux XXXII, XXXIII et XXXIV). Parfois, on les a ramenés de nouveau dans l'étuve à 38° (Tableau XXXIV). Le potentiel est parfaitement réversible.

Le coefficient de température ΔE de l'équilibre hypoxanthine $\rightleftharpoons$ acide urique est $-0^{\circ},0018$ et celui du système xanthine $\rightleftharpoons$ acide urique est $-0^{\circ},0018$.

TABLEAU XXXII

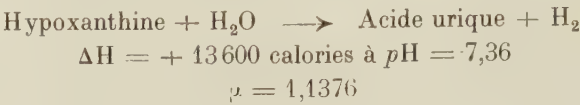
Hypoxanthine M/68 [2 mgr. pour 1 cm³ tampon Bénédict] ; Acide urique M/58 [2,47 mgr. pour 1 cm³ tampon Bénédict] ; Déshydrase solution à 1 % dans tampon M, pH = 7,39. Méthylviologène 10⁻³ M
Chaque tube contient : 1 cm³ hypoxanthine, 1 cm³ déshydrase, 1 cm³ méthylviologène, 2 cm³ tampon M de phosphate pH = 7,3. Dans les tubes nos 1 et 2 on ajoute 1 cm³ tampon de Bénédict. Dans les tubes nos 3 et 4 on ajoute 1 cm³ acide urique.

Heures	Température	Numéros des tubes			
		1	2	3	4
		E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt
3 h.	38°	— 0,380	— 0,411	— 0,362	— 0,386
19 h.	38°	— 0,447	— 0,455	— 0,414	— 0,418
27 h.	38°	— 0,459	— 0,461	— 0,410	— 0,414
43 h.	38°	— 0,455	— 0,463	— 0,412	— 0,411
51 h.	38°	— 0,456	— 0,465	— 0,420	— 0,409
67 h.	38°	— 0,465	— 0,461	— 0,413	— 0,412
95 h.	38°	— 0,463	— 0,463	— 0,417	— 0,414
95 h.	à 25°				
98 h.	25°	— 0,439	— 0,440	— 0,399	— 0,394
117 h.	25°	— 0,438	— 0,441	— 0,392	— 0,391
139 h.	25°	— 0,436	— 0,442	— 0,388	— 0,388
170 h.	25°	— 0,440	— 0,442	— 0,390	— 0,390
200 h.	25°	— 0,435	— 0,438	— 0,389	— 0,389
		pH = 7,47 à 25°	pH = 7,47 à 25°	pH = 7,39 à 25°	pH = 7,35 à 25°

L'équation de Gibbs-Helmholtz permet de calculer la chaleur à pression constante ΔH des deux oxydations

$$\Delta H = n\mathcal{F}T \frac{dE_0'}{dT} - n\mathcal{F}E_0'.$$

On trouve pour la première réaction :



et pour la seconde réaction :

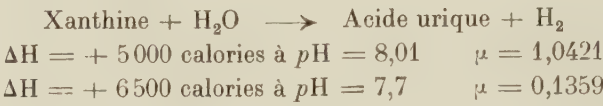


TABLEAU XXXIII

Xanthine 1,47·10⁻²M [2,23 mgr. pour 1 cm³ NaOH N/10] ; Méthylviologène 10⁻³ M ; Acide urique 1,47·10⁻² M [2,47 mgr. pour 1 cm³ tampon Bénédic] ; Déshydrase solution à 1 % dans tampon M de $pH = 7,7$.

Chaque tube contient : 1 cm³ xanthine, 1 cm³ déshydrase, 1 cm³ méthylviologène et 2 cm³ tampon M de $pH = 7,7$. Dans le tube n° 1 on ajoute 1 cm³ tampon de Bénédic. Dans les tubes nos 2, 3 et 4 on ajoute 1 cm³ acide urique.

Heures	Température	Numéros des tubes			
		1	2	3	4
		E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt
1 h.	38°	—	— 0,250	— 0,331	— 0,300
2 h.	38°	— 0,400	—	—	—
21 h.	38°	— 0,481	— 0,451	— 0,452	— 0,453
48 h.	38°	— 0,483	— 0,452	— 0,453	— 0,453
66 h.	38°	— 0,482	— 0,452	— 0,452	— 0,453
69 h.	à 25°	—	— 0,452	—	—
73 h.	25°	— 0,459	— 0,429	— 0,430	— 0,431
91 h.	25°	— 0,458	— 0,428	— 0,429	— 0,429
97 h.	25°	— 0,458	— 0,428	— 0,428	— 0,429
137 h.	25°	— 0,459	— 0,428	— 0,429	— 0,428
200 h.	25°	— 0,458	— 0,425	— 0,427	— 0,428
240 h.	25°	— 0,458	— 0,425	— 0,428	— 0,427
		pH = 8,35 à 25°	pH = 8,00 à 25°	pH = 8,00 à 25°	pH = 8,03 à 25°

TABLEAU XXXIV

Xanthine M/68 [2,23 mgr. pour 1 cm³ NaOH N/10 ; Acide urique M/68 [2,47 mgr. pour 1 cm³ tampon Bénédict] ; Méthylviologène 10⁻³ M ; Déshydrase solution à 1 % dans tampon M/10 pH = 6,3. Chaque tube contient : 1 cm³ xanthine, 1 cm³ déshydrase, 1 cm³ méthylviologène et 2 cm³ tampon 10⁻¹ M pH = 6,3. Dans le tube n° 1 on ajoute 1 cm³ tampon de Bénédict. Dans les tubes nos 2, 3 et 4 on ajoute 1 cm³ acide urique.

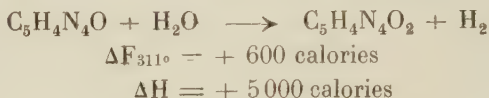
Heures	Température	Numéros des tubes			
		1	2	3	4
		E _h volt	E _h volt	E _h volt	E _h volt
2 h.	38°	— 0,351	— 0,331	— 0,382	— 0,165
18 h.	38°	— 0,448	— 0,414	— 0,414	— 0,412
41 h.	38°	— 0,450	— 0,416	— 0,416	— 0,414
66 h.	38°	— 0,450	— 0,416	— 0,416	— 0,416
95 h.	38°	— 0,453	— 0,419	— 0,417	— 0,418
	à 25°				
97 h.	25°	— 0,435	— 0,400	— 0,402	— 0,402
121 h.	25°	— 0,432	— 0,396	— 0,398	— 0,396
137 h.	25°	— 0,430	— 0,394	— 0,394	— 0,392
185 h.	25°	— 0,425	— 0,392	— 0,392	— 0,388
	à 38°				
236 h.	38°	— 0,448	— 0,415	— 0,420	— 0,418
286 h.	38°	— 0,448	— 0,415	— 0,419	— 0,419
310 h.	38°	— 0,445	— 0,415	— 0,419	— 0,419
		pH = 7,72 à 38°	pH = 7,73 à 38°	pH = 7,75 à 38°	pH = 7,68 à 38°

CONCLUSIONS

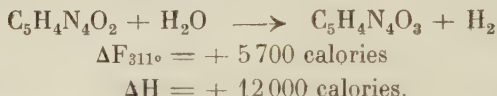
Les déterminations effectuées au cours de ce travail peuvent être examinées au double point de vue physicochimique et physiologique.

Il y a lieu tout d'abord de comparer les variations d'énergie libre ΔF avec les chaleurs de réaction à pression constante ΔH déterminées par BERTHELOT, quoique celles-ci se rapportent à l'état solide.

On a pour l'oxydation de l'hypoxanthine en xanthine suivant l'équation :

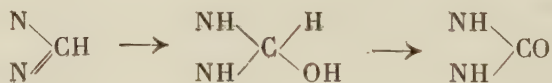


et pour l'oxydation de la xanthine en acide urique, suivant l'équation ..



Dans son mémoire sur la thermochimie des oxypurines, BERTHELOT fait remarquer qu'il y a décroissance dans la chaleur dégagée par la combinaison successive des atomes d'oxygène et que ceci est conforme à une relation générale dans les combinaisons formées en proportions multiples, à savoir : que la chaleur dégagée par les combinaisons successives de deux éléments ou de deux corps déjà composés va en diminuant plus ou moins rapidement que l'un des éléments s'accumule.

On voit que la variation d'énergie libre correspondant à l'oxydation du groupement :



va aussi en croissant du premier au deuxième stade d'oxydation.

Il n'est pas possible de discerner si cette croissance est due à la différence de position du groupement qui cède l'hydrogène ou à une différence dans l'énergie de l'hydratation qui précède l'oxydation.

En ce qui concerne la chimie des organismes, les résultats de ce travail permettent de considérer la synthèse des purines du point de vue énergétique. De la manière courante, les formations des divers constituants cellulaires sont simplement envisagées comme des réactions individuelles se faisant grâce à la

présence de catalyseurs spécifiques. WURMSER a cherché à établir une relation entre les synthèses multiples qui permettent aux cellules de conserver leur composition chimique. Dans cette théorie, certaines phases du métabolisme sont des oxydoréductions réversibles en équilibre entre elles et avec les systèmes électroactifs des cellules. Or le potentiel des milieux cellulaires a une valeur voisine de $-0,050$ volt. Les potentiels normaux à 38° et à $pH = 7$ des systèmes hypoxanthine-xanthine et xanthine-acide urique sont respectivement $-0,407$ volt et $-0,353$ volt, c'est-à-dire ont des valeurs négatives beaucoup plus grandes que le potentiel cellulaire. On doit donc penser que l'oxydation des oxypurines ne constitue pas une phase réversible dans l'organisme.

On peut se demander toutefois si dans un territoire limité de la cellule où se ferait précisément une telle transformation, le potentiel n'est pas différent de la valeur admise pour l'ensemble du cytoplasme. Etant donné que les dérivés puriques entrent spécialement dans la constitution du matériel du noyau, il vient à l'idée que le potentiel du milieu nucléaire peut différer de celui du reste de la cellule. RAPKINE et WURMSER (^{13, 22}) ont bien trouvé par micro-injection d'indicateurs dans les noyaux de certaines cellules que le potentiel est le même que celui du cytoplasme. Mais il s'agit ici du potentiel des systèmes électroactifs en équilibre rapide contenu dans les cellules et non du potentiel dû aux systèmes lents. Ce dernier est le potentiel vrai qu'il faut considérer pour ce qui nous occupe et on ne connaît pas sa valeur pour le noyau. Cependant, rien à la vérité ne permet de croire que ce potentiel diffère de celui du cytoplasme. En outre les travaux des physiologistes montrent que le passage de l'acide urique à la xanthine ou à l'hypoxanthine ne paraît pas pouvoir se réaliser dans les tissus et l'on sait d'autre part, depuis KOSSEL, que les oxypurines ne sont que des produits secondaires formés aux dépens de l'adénine et de la guanine : ils ne doivent donc pas participer à des équilibres cellulaires fondamentaux.

Il y a par conséquent un accord complet entre nos résultats et ce que l'on sait du comportement des oxypurines dans les organismes.

RÉSUMÉ

Ce mémoire commence par un exposé de la méthode électrométrique appliquée à la mesure de l'énergie libre des réactions d'oxydation et de réduction entre corps non électroactifs. Les conditions pratiques à réaliser sont d'avoir à sa disposition un catalyseur suffisamment pur et un corps électroactif intermédiaire dont le potentiel normal est suffisamment voisin de celui du système non électroactif que l'on étudie.

Dans le cas des équilibres entre l'hypoxanthine, la xanthine et l'acide urique, on disposait d'un bon catalyseur : la xanthine déshydrase. Une série de recherches préliminaires a montré qu'il existait un colorant, le chlorure de diméthyl- γ,γ' -dipyridile ou méthylviologène, qui pouvait être employé comme corps électroactif intermédiaire.

Ce colorant a donc été préparé par la méthode de MICHAELIS et a servi pour toutes les déterminations suivantes :

1° On a mesuré le potentiel de mélanges en équilibre constitués par des quantités équimoléculaires de xanthine et d'acide urique ou d'hypoxanthine et d'acide urique, en présence de la diastase, du méthylviologène et de phosphates maintenant l'activité des ions H^+ à une valeur déterminée.

Le potentiel mesuré, E_h est défini par les relations

$$E_h = E_0 - \frac{RT}{2F} \frac{1}{0,4343} \log \frac{(\text{xanth.})}{(\text{ac. urique})} - \frac{RT}{2F} \frac{1}{0,4343} \log \frac{K_1 K_2 K_3 + K_1 K_2 [H^+] + K_1 [H^+]^2 + [H^+]^3}{[H^+]^3 + [H^+]^2 K_{1x_a} + [H^+] K_{1x_a} K_{2x_a}} + \frac{1}{0,4343} \frac{RT}{F} \log [H^+],$$

$$E_h = E_0 - \frac{RT}{4F} \frac{1}{0,4343} \log \frac{(\text{hypox.})}{(\text{ac. urique})} - \frac{RT}{4F} \frac{1}{0,4343} \log \frac{[H^+]}{K_{hy} + [H^+]} \times \frac{K_1 K_2 K_3 + K_1 K_2 [H^+] + [H^+]^2 K_1 + [H^+]^3}{[H^+]^3} + \frac{RT}{F} \frac{1}{0,4343} \log [H^+]$$

où K_{1x_a} et K_{2x_a} représentent les constantes de dissociation de la xanthine, K_{hy} celle de l'hypoxanthine et K_1 , K_2 et K_3 les trois constantes de dissociation de l'acide urique, et (xanth.), (hypox.) et (acide urique) représentant la somme des quantités de xanthine, d'hypoxanthine et d'acide urique dissociés et non dissociés.

Les mesures donnent directement la valeur du potentiel correspondant à la semi-réduction des systèmes.

2° On a ajouté à un mélange d'hypoxanthine ou de xanthine ayant atteint

son équilibre en présence de méthylviologène et de diastase, la quantité d'acide urique nécessaire pour ramener les rapports $\frac{(\text{hypox.})}{(\text{ac. urique})}$ et $\frac{(\text{xanth.})}{(\text{ac. urique})}$ à la valeur 1. La réaction a progressé alors en sens inverse de l'oxydation et les valeurs finales ont été les mêmes que celles obtenues dans les expériences précédentes.

3° On a obtenu encore le même état d'équilibre en partant d'acide urique, et de méthylviologène réduit par l'hydrosulfite de sodium.

Pour calculer le potentiel normal, E_0 , on a utilisé les constantes de dissociation de l'acide urique et de la xanthine déjà connus et on a déterminé par la méthode de solubilité celles de l'hypoxanthine.

$$K_{Hy} = 2,13 \cdot 10^{-11} \quad K_{Hyb} = 8,07 \cdot 10^{-13}.$$

La comparaison des potentiels normaux montre que la variation d'énergie libre correspondant aux deux stades d'oxydation est :

pour le système hypoxanthine $\rightleftharpoons$ xanthine :

$$\Delta F = + 600 \text{ calories}$$

pour le système xanthine $\rightleftharpoons$ acide urique

$$\Delta F = + 5700 \text{ calories}$$

les chaleurs de réaction à pression constante présentent une disproportion analogue.

Au point de vue physiologique, la détermination des potentiels correspondant aux systèmes hypoxanthine $\rightleftharpoons$ xanthine et xanthine $\rightleftharpoons$ acide urique montre qu'il ne doit pas y avoir d'équilibre entre ces oxypurines dans les milieux cellulaires. Ce résultat est conforme à ce que l'on sait sur le métabolisme de ces substances.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) AUDUBERT R. — *Bull. Union Physiciens*, **26**, 409 (1932).
- (2) BACH A. et MICHLIN D. — *Berichte D. Chemischen ges.* **60**, 82, (1924).
- (3) BORSOOKH et SCHOTT H.-F. — *Journ. Biol. Chem.*, **92**, 533, (1931).
- (4) DIMROTH O. et HEENE R. — *Berichte Deutsch. Chem. Ges.* **54**, 2, p. 2934 (1921).
- (5) DIXON M. et THURLOW S. — *Biochem. Journ.*, vol. **18**, n° 5, 971 (1924).
- (6) DIXON M. et KODAMA K. — *Biochem. Journ.*, vol. **20**, n° 5, 1104 (1924).
- (7) DIXON M. — *Biochemical. Journ.*, vol. **20**, n° 4, 703 (1926).
- (8) LE BRETON E. et KAISER CH. — *Bull. Soc. Chim. Biolog.*, **8**, 816, (1926).
- (9) MICHAELIS L. — *Biochem. Zeitsch.*, 250 Band., 1-6 Heft., 564 (1932).
- (10) MORGAN E. J., STEWART C. P., HOPKINS F. G. — *Proc. Roy. Soc., B*, vol. **94**, p. 109 (1922).
- (11) PAUL. — *Arch. Pharm.* (1901), **239**, p. 48.
- (12) QUASTEL J.-H. et WHETHAM N.-D. — *Biochem. Journ.*, **18**, 519 (1924).
- (13) RAPKINE L. et WURMSER R. — *Proc., Roy., Soc., B*, **102**, p. 128 (1927).
- (14) THUNBERG T. — *Skand. Archiv. f. Physiol.*, **46**, p. 339 (1925).
- (15) URBAIN G. — *C. R. Acad. Sc.*, **194**, p. 1993 (1932).
- (16) YOUNG E. G. et MUSGRAVE F. — *Biochem. Journ.*, (1932), vol. **26**, p. 941.
- (17) WIELAND H. et ROSENFELD B. — *Liebigs Ann.* **477**, 32-77, (1929).
- (18) WOOD. — *Journ. London. Chem. Soc.*, **89**, p. 1839 (1906).
- (19) WURMSER et MAYER-REICH N. — *Journ. Chim. Physique*, **30**, p. 249 (1933).
- (20) WURMSER R. — *Biolo. Rev.*, vol. **7**, n° 4, p. 350 (1932).
- (21) WURMSER R. et GELOSO J. — *Journ. Chim. Physique*, **28**, p. 260 (1931).
- (22) WURMSER R. et RAPKINE L. — *C. R. Acad. Sc.*, p. 000 (1931).

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	4
I. Détermination électrométrique du potentiel d'oxydo-réduction d'un système <i>non</i> électroactif.....	5
1. Principe de la méthode	5
2. Conditions pratiques d'application de la méthode.....	7
II. Techniques employées	12
3. Purification des oxypurines	12
4. La xanthinedéshydrase	12
5. Technique des déterminations des potentiels	13
III. Le corps électroactif intermédiaire	16
6. Recherche du corps électroactif.....	16
7. Préparation du méthylviologène.....	17
IV. Equations des électrodes	20
8. Nombre d'équivalents d'hydrogène échangés.....	20
9. Constantes de dissociation.....	24
10. Equation de l'électrode xanthine-acide urique.....	27
11. Equation de l'électrode hypoxanthine-acide urique.....	28
V. Mesure des potentiels.....	30
12. Marche des expériences.....	30
13. Equilibre entre l'hypoxanthine et l'acide urique.....	31
14. Equilibre entre la xanthine et l'acide urique.....	42
15. Influence de la concentration ionique.....	47
16. Calcul de l'énergie libre.....	53
17. Influence de la température.....	55
CONCLUSIONS	58
RÉSUMÉ	60
BIBLIOGRAPHIE	62

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

THÉORIE DES MOLECULES DITES EN LONGUE CHAÎNE

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 19 Novembre 1934.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

CH. MAURAIN.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur de l'Académie de Paris.

S. CHARLÉTY.

